

PRODUCTIVIDAD Y NODULACIÓN NATURAL DE DOS ECOTIPOS DE *Gliricidia sepium* EN CONDICIONES DE INVERNADERO

Carlos Manuel Acosta-Durán^{1*}, Oscar Gabriel Villegas-Torres¹,
Irán Alía-Tejacal¹, Dagoberto Guillén-Sánchez²

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Cuernavaca, Morelos, México. Correo-e: acosta_duran@yahoo.com.mx

²Campus Oriente. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

*Autor para correspondencia.

RESUMEN

Para estudiar la relación de la nodulación natural con en el crecimiento inicial de *Gliricidia sepium*, se compararon dos ecotipos (Morelos y Colima) en condiciones de invernadero. Se analizó el porcentaje y los días a la emergencia de las plántulas. Por otro lado se sembraron semillas en bolsas de polietileno de 25 cm de diámetro y 20, 40, 60 y 80 cm de profundidad. Se realizaron muestreos destructivos a los 20, 40, 60 y 80 días después de la siembra y se analizaron las variables de longitud, diámetro basal, peso de materia fresca y seca de tallo, número de hojas, altura de inserción de la primera hoja, peso de materia fresca y seca de hojas, relación hoja/tallo, velocidad de crecimiento, longitud, peso de materia fresca y seca de raíz, número de nódulos por planta y porcentaje de plantas con nódulos. Los resultados mostraron una emergencia máxima de plántulas de 77 % a los 15 días

después de la siembra. El ecotipo Colima fue superior al ecotipo Morelos en la mayoría de las variables de crecimiento. Se concluyó que existen diferencias genotípicas entre las procedencias de *G. sepium* que influyen en su crecimiento inicial.

Palabras clave: *Gliricidia sepium*, *Rhizobium*, ecotipos, crecimiento inicial, nodulación, biomasa.

ABSTRACT

To study the relation between the natural nodulation and initial growth of *Gliricidia sepium*, two ecotypes (Morelos and Colima) in glasshouse conditions were compared. The percentage and the emergence period of the plants were analyzed. By other way, seeds were sowed in polyethylene bags with 25 cm of diameter and 20, 40, 60, and 80 cm deep. Destructive samples were taken at 20, 40, 60, and 80 days after sowing and stem length, stem

Recibido: 25/02/2011; Aceptado: 8/05/2011.

base diameter, stem fresh and dry matter, quantity of leaves, first leaf insertion height, leaves fresh and dry matter, leaf/stem relation, root length, root fresh and dry matter, quantity of nodules per plant, plants with nodules percentage, and growth speed, were analyzed. Results showed, 77 % at the most emergences of seedlings at 15 days after sowing. Colima ecotype was superior to Morelos ecotype in the most of growth parameters studied. The conclusion was that there are genotypic differences between the ecotypes of *G. sepium* that affect initial growth of the plant.

Key words: *Gliricidia sepium*, *Rhizobium*, ecotypes, initial growth, nodulation, biomass.

INTRODUCCIÓN

Gliricidia sepium (Jacq.) Walp. o mata ratón, es una leguminosa arbórea de rápido crecimiento, nativa de las selvas secas neotropicales de México y Centroamérica, donde tiene usos múltiples; crece bien en lugares cálidos con temperatura promedio de 22 a 30 °C y entre 800 y 2 300 mm de lluvia por año (Onwuka, 1984; Atta-krah *et al.*, 1986). *G. sepium* forma parte de los sistemas de cultivo en los trópicos (Onwuka, 1984) porque sus características de adaptación y productividad la colocan como una alternativa forrajera muy prometedora (Hughes, 1978; Francisco y Hernández, 1998). Además es una de las leguminosas del trópico seco con mayor capacidad de fijación de nitrógeno, pues se estima que puede fijar de 86 a 370 kg N ha⁻¹año⁻¹ (Peoples *et al.*, 1995; Sanginga *et al.*, 1995). En Sri Lanka, es el árbol más utilizado en cultivos asociados, principalmente con palma de coco (*Cocos* spp) para proporcionar biofertilizantes y alimento animal (Liyanage y Jayasundara, 1988; Liyanage *et al.*, 1990).

Presenta nódulos de crecimiento indeterminado asociados con bacterias de los géneros *Rhizobium* y *Sinorhizobium*

(Acosta-Durán y Martínez-Romero, 2002). El conocimiento de la relación simbiótica entre *G. sepium* y *Rhizobium* spp. permite desarrollar sistemas de producción de forraje sin el uso de fertilizantes químicos, aprovechando su capacidad fijadora de nitrógeno (Peoples *et al.*, 1995).

La información acerca de las diferencias en capacidad de fijación de N₂ entre procedencias de *G. sepium* es escasa (Liyanage *et al.*, 1994). Sanguinga *et al.* (1991) demostraron que la cantidad de N₂ fijado por ecotipos de *G. sepium* es influenciada por las cepas de *Rhizobium* y estimaron que la proporción de N₂ en la planta derivado de la fijación biológica varió del 36 a 71%. Awonaike y Hardarson (1992) compararon la interacción genotipo - cepa (*Gliricidia* – *Rhizobium*) y encontraron que de 25 asociaciones estudiadas, 22 tomaron de la atmósfera más del 50% del N₂ necesario para su crecimiento, por lo que su potencial de fijación es comparable con el de *Leucaena leucocephala*.

La profundidad y distribución de las raíces de los árboles adultos dificulta coleccionar nódulos directamente en suelos forestales, por lo que los estudios en plantas jóvenes son útiles para establecer capacidad de nodulación y otras relaciones con las bacterias. No existen referencias sobre el inicio de la nodulación ni de su efecto en el crecimiento inicial de *G. sepium*. Esta información permitirá determinar el momento adecuado para la aplicación de inoculantes y favorecer el establecimiento de esta especie, por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la nodulación natural de dos ecotipos de *Gliricidia sepium* en el crecimiento inicial.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en el campo experimental de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos en Cuernavaca, Morelos, México. En

invernadero se sembraron semillas de dos ecotipo de *G. sepium* (Morelos y Colima) en suelo sin esterilizar. Las semillas se colectaron tres meses antes de la siembra y se almacenaron en bolsas de papel a temperatura ambiente. El suelo fue colectado de Santa Rosa (sur del Estado de Morelos), lugar donde crece *G. sepium* en forma silvestre. Se eligió ese suelo para asegurar la presencia de bacterias noduladoras en el suelo. El suelo es arcillo-arenoso con pH de 6.3, 2.3 % de materia orgánica, 0.15 ppm de N, 0.10 ppm de P y 0.13 ppm de K.

La siembra se realizó en bolsas de polietileno de 25 cm de diámetro por 80 cm de profundidad. Las plantas se mantuvieron a humedad constante y no se aplicaron fertilizantes ni plaguicidas. La temperatura del invernadero varió entre 35 y 17 °C de máxima y mínima promedio.

La emergencia se evaluó diariamente durante los 15 días posteriores a la siembra (dps) considerando como planta emergida aquella en la que el cotiledón salió completamente del suelo. Con muestreos destructivos a los 20, 40, 60 y 80 dps, se determinó la longitud, diámetro basal, peso de materia fresca y seca de tallo; número de hojas, altura de inserción de la primera hoja, peso de materia fresca y seca de hojas; relación hoja/tallo; longitud, peso de materia fresca y seca de raíz; número de nódulos por planta y porcentaje de plantas con nódulos; y velocidad de crecimiento de las plantas. La unidad experimental consistió de ocho macetas con una planta cada una para cada ecotipo, en cada muestreo. Se analizaron las variables mediante la prueba de t de student ($P \leq 0.05$).

También se analizó el comportamiento del crecimiento dentro de cada ecotipo, durante 80 dps. Para el análisis se calculó el incremento de valores de cada variable en periodos de 20 días (diferencia entre el valor final y el inicial de cada periodo). En la variable de número de

nódulos se consideró el efecto del valor total acumulado. Los datos se analizaron con un diseño completamente al azar de cuatro tratamientos y cuatro repeticiones donde los tratamientos considerados fueron 20, 40, 60 y 80 dps. Para diferenciar las medias se utilizó la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Emergencia. Las plántulas empezaron a emerger a los cinco dps. A los siete dps se observó la emergencia completa de las primeras plántulas. A los 15 dps se tenía 41 y 78 % de emergencia máxima para el ecotipo de Morelos y Colima, respectivamente. En los primeros nueve dps emergió el 73 y el 77% del total de cada ecotipo (Figura 1).

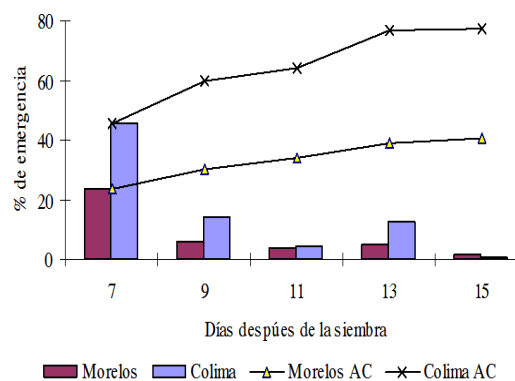


Figura 1. Porcentajes de emergencia y emergencia acumulada de dos ecotipos de *Gliricidia sepium* en condiciones de invernadero. (AC=Porcentaje acumulado).

Aunque algunos autores mencionan que *G. sepium* presenta entre el 90 al 100 % de emergencia (Harrington, 1972; Palma, 1999; Gómez *et al.* 1990) y la emergencia ocurre entre los 3 y 15 dps (Parrotta, 1992), en este trabajo el máximo fue de 77 % y ocurrió entre los 7 y 15 dps. Las semillas utilizadas eran de la misma edad y se

mantuvieron en similares condiciones de almacenamiento por lo que las diferencias observadas en la emergencia entre los dos ecotipos pueden atribuirse a sus características genéticas como indican Gómez *et al.* (1990) y Parrotta (1992), quienes encontraron diferencias en la emergencia de ecotipos de *G. sepium* de diferente procedencias.

Nodulación y desarrollo entre ecotipos. En plantas de 60 dps hubo diferencias significativas entre los ecotipos en las variables de longitud de tallo, peso de materia seca de tallo, inserción de la primera hoja, peso de materia fresca de hojas, velocidad de crecimiento, longitud de raíz, peso de materia fresca y seca de raíz, y número de nódulos por planta, superando en todos los casos el ecotipo de Colima al de Morelos. Similar comportamiento se observó en plantas de 80 dps, donde además hubo diferencia estadística en el peso de materia fresca de tallo y el peso de materia seca de hojas con mejor comportamiento en el ecotipo Colima (Cuadros 1 y 2). El efecto de la fijación de nitrógeno puede observarse en los parámetros de crecimiento de la planta como son las medidas de producción de biomasa (Gómez *et al.*, 1990). Se observó diferencia entre ecotipos, para el número de nódulos por planta, donde a los 60 dps y a los 80 dps el ecotipo Colima fue superior al ecotipo Morelos, en 217 y 180 % a los 60 y 80 dps, respectivamente, lo que coincide con las diferencias estadísticas observadas en la longitud y el peso seco del tallo entre los dos ecotipos.

El desarrollo de vástago se comportó sin variación entre los ecotipos dentro de los primeros 40 dds aunque en otros trabajos el comportamiento entre ecotipos ha presentado diferencias de crecimiento desde las etapas iniciales. Según Palma (1999) el crecimiento inicial de *Gliricidia* en condiciones de temporal y sin fertilización

es de 0.65 cm día⁻¹ (en julio). En este trabajo la velocidad de crecimiento (longitud de tallo / no. de días) mostró valores descendentes, de 0.25 y 0.27 cm día⁻¹ a los 20 dps, a 0.11 y 0.14 cm día⁻¹ a los 80 dps, en el ecotipo Morelos y Colima respectivamente (Cuadro 1). A los 60 y 80 dps se observaron diferencias entre los ecotipos en el crecimiento del vástago, como efecto de la nodulación, ya que estas diferencias coinciden con el periodo en el que existe diferencia significativa en el número de nódulos por planta de cada ecotipo (Cuadro 2).

Se observó el efecto de la nodulación en el peso de la materia fresca y seca de las hojas con diferencias a los 60 y 80 dps superando el ecotipo Colima al Morelos. En el peso de la materia fresca de las hojas, el ecotipo Colima superó en 55.5 y 50.35 % y en el peso de materia seca en 68.5 y 64.1 % al Morelos (Cuadro 1). El peso seco y fresco de las hojas tiene una relación directamente proporcional a la cantidad de nitrógeno que absorbe la planta y las diferencias en este trabajo coinciden con la época de mayor nodulación. Los resultados concuerdan con Gómez *et al.* (1990) quienes encontraron diferencias en la producción de biomasa de acuerdo a la procedencia del ecotipo.

El crecimiento de la raíz depende de la concentración de nutrimentos en el suelo así como de la disponibilidad de agua; en este trabajo la humedad se mantuvo en cantidades suficientes para el buen desarrollo de la planta, por lo que las diferencias observadas se deben a la mayor velocidad de crecimiento del ecotipo Colima. El rápido desarrollo de la raíz del ecotipo Colima podría promover una mayor y más rápida nodulación lo que se refleja en un mayor desarrollo del vástago con respecto al ecotipo Morelos (Cuadro 2).

Cuadro 1. Desarrollo del vástago de dos ecotipos de *Gliricidia sepium* durante 80 días en condiciones de invernadero.

Ecotipo	Días posteriores a la siembra			
	20	40	60	80
<u>Longitud de tallo (cm)</u>				
Morelos	5.16 a	7.13 a	8.34 b	9.41 b
Colima	5.52 a	7.16 a	10.18 a	11.93 a
<u>Diámetro basal (cm)</u>				
Morelos	0.28 a	0.32 a	0.34 a	0.37 a
Colima	0.30 a	0.33 a	0.37 a	0.38 a
<u>Materia fresca de vástago (g)</u>				
Morelos	0.73 a	0.70 a	0.48 a	0.68 b
Colima	0.80 a	0.68 a	0.62 a	1.04 a
<u>Materia seca de vástago (g)</u>				
Morelos	75.62 a	62.50 a	73.12 b	118.12 b
Colima	31.48 a	71.78 a	121.87 a	183.50 a
<u>Número de hojas</u>				
Morelos	3.81 a	6.81 a	8.31 a	8.75 a
Colima	4.43 a	6.18 a	8.06 a	8.93 a
<u>Inserción de la primera hoja (cm)</u>				
Morelos	4.06 a	4.80 a	4.47 b	4.73 b
Colima	4.57 a	4.58 a	5.66 a	6.35 a
<u>Materia fresca de hojas (g)</u>				
Morelos	0.19 a	0.70 a	1.11 b	1.43 b
Colima	0.23 a	0.81 a	2.00 a	2.84 a
<u>Materia seca de hojas (mg)</u>				
Morelos	27.50 a	145.62 a	185.00 a	288.75 b
Colima	41.25 a	154.37 a	270.00 a	450.00 a
<u>Velocidad de crecimiento (cm día⁻¹)</u>				
Morelos	0.25 a	0.18 a	0.14 b	0.11 b
Colima	0.27 a	0.18 a	0.17 a	0.14 a
<u>Relación hoja –tallo de la materia fresca</u>				
Morelos	0.27 a	1.03 a	2.32 a	2.09 a
Colima	0.28 a	1.22 a	4.14 a	2.73 a

Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (t, 0.05).

Cuadro 2. Desarrollo de la raíz y nodulación natural de dos ecotipos de *Gliricidia sepium* durante 80 días en condiciones de invernadero.

Ecotipo	Días posteriores a la siembra			
	20	40	60	80
<u>Longitud de raíz (cm)</u>				
Morelos	5.89 a	13.49 a	18.04 b	21.56 b
Colima	5.92 a	12.93 a	20.65 a	27.06 a
<u>Materia fresca de raíz (g)</u>				
Morelos	0.17 a	0.42 a	0.38 b	0.46 b
Colima	0.12 a	0.40 a	0.94 a	0.84 a
<u>Materia seca de raíz (mg)</u>				
Morelos	20.00 a	56.25 a	60.62 b	121.25 b
Colima	23.70 a	46.87 a	117.50 a	183.12 a
<u>Número de nódulos por planta</u>				
Morelos	0.00 a	1.37 a	3.19 b	3.19 b
Colima	0.00 a	1.87 a	10.12 a	8.94 a

Medias con letras iguales en las columnas, no son estadísticamente diferentes (t, 0.05).

Los resultados muestran que las diferencias observadas en el número de nódulos, coincidieron con las diferencias en las variables de crecimiento vegetativo. Los indicadores de crecimiento fueron superiores en los casos en que la nodulación fue más abundante y en todos los casos el ecotipo Colima superó al Morelos. *Gliricidia* es una planta que crece en suelos con poca disponibilidad de nitrógeno por lo que su desarrollo inicial depende de su capacidad de fijar nitrógeno en las fases tempranas de su crecimiento. El mayor número de nódulos representa una mayor disponibilidad de nitrógeno para el crecimiento de la planta, lo que se observa principalmente en el aumento de biomasa, es decir en la materia seca de hojas y tallos principalmente lo que sugiere que el ecotipo Colima, al tener una mayor capacidad de nodulación, propicia una mayor producción de biomasa.

Las diferencias observadas entre los dos ecotipos confirman que la variación entre genotipos lleva a considerar que se pueden encontrar, en diferentes regiones, materiales con diferente capacidad de

fijación de nitrógeno para su selección como variedades prometedoras en la producción de forraje de calidad.

Nodulación y desarrollo dentro de cada ecotipo. En el ecotipo Morelos, se observó la presencia de nódulos en plantas de 40, 60 y 80 dps. A los 20 dps las plantas no presentaron nodulación. Las plantas que presentaron nódulos superaron estadísticamente a las que no los presentaron en los incrementos del peso de materia seca de hojas (40 y 80 dps) y en la relación hoja/tallo(60 y 80 dps) (Cuadro 3). En las variables de longitud de tallo, diámetro basal, peso de materia fresca y seca de tallo, número de hojas, inserción de la primera hoja, longitud de la raíz, peso de materia fresca de la raíz y velocidad de crecimiento, los incrementos fueron menores cuando se observó mayor cantidad de nódulos. Los incrementos marcados con cero indican que el promedio del peso fresco de hojas a los 40 dps fue igual al de las plantas de 60 dps, lo mismo que para el peso seco en el periodo de 20 a 40 dps (Cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis de los incrementos de las variables de desarrollo del ecotipo "MORELOS" de *G. sepium* en condiciones de invernadero.

dds	Número de nódulos	Longitud de tallo (cm)	Diámetro basal (cm)	Materia fresca de vástago (mg)	Materia seca de vástago (mg)
20	0.00 b	5.16 a	0.29 a	728.00 a	75.60 a
40	1.38 ab	1.98 b	0.03 b	65.00 c	0.00 c
60	3.19 a	1.21 b	0.03 b	0.00 c	11.40 c
80	3.19 a	1.08 b	0.03 b	208.00 b	44.30 b
	Número de hojas	Inserción 1ª hoja (cm)	Materia fresca de hojas (mg)	Materia seca de hojas (mg)	Relación hoja/tallo
20	3.82 a	4.06 a	198.00 a	27.50 b	0.26 c
40	2.99 a	0.74 b	504.00 a	118.80 a	1.03 b
60	1.50 b	0.00 c	416.00 a	30.00 b	2.32 a
80	0.94 b	0.26 c	362.00 a	103.75 a	2.09 a
	Longitud de raíz (cm)	Materia fresca de raíz (mg)	Materia seca de raíz (mg)	Velocidad de crecimiento (cm día ⁻¹)	
20	5.89 ab	176.00 ab	20.00 bc	0.25 a	
40	7.46 a	251.00 a	36.30 b	0.18 b	
60	4.55 b	3.75 c	7.50 c	0.14 c	
80	3.52 b	112.00 bc	60.60 a	0.11 c	

Medias con letras iguales en las columnas, no son estadísticamente diferentes (Tukey ≤ 0.05).

En el ecotipo Colima, se observó la presencia de nódulos en plantas de 40, 60 y 80 dps. A los 20 dps las plantas no presentaron nodulación. Las plantas de 60 y 80 dps superaron significativamente a las de 20 y 40 dps en el número de nódulos (Cuadro 4). Las diferencias en el número de nódulos coincidieron con las diferencias de los incrementos del peso de materia fresca de tallo, el peso de materia fresca de hojas, la relación hoja/tallo y el peso de materia seca de raíz. Los incrementos del diámetro basal, número de hojas, inserción de la primera hoja y velocidad de crecimiento se comportaron de manera inversa al número de nódulos.

La tasa de crecimiento del vástago de ambos ecotipos de *G. sepium* es mayor en los primeros 20 dps. El crecimiento del tallo mantiene una constante durante todo el periodo del experimento, no así en el peso de la materia fresca y seca de tallo donde

se observó un decremento después de los 20 dds y posteriormente un incremento muy rápido. La raíz crece más rápido comparada con el tallo en ambos ecotipos, posteriormente se reduce la velocidad de crecimiento. La velocidad de crecimiento del vástago tiende a decrecer mientras que la raíz crece significativamente, lo que sugiere que el vástago y la raíz crecen alternadamente en la etapa de establecimiento de la planta, además parece que durante la formación de nódulos la planta detiene el crecimiento vegetativo. En el ecotipo Colima los incrementos del peso de materia seca de raíz fueron significativamente mayores en relación al ecotipo Morelos, lo que posiblemente provocó una mayor nodulación. La mayor cantidad de nódulos pudo incrementar el peso de materia fresca y seca de las hojas provocando también un efecto en la relación hoja/tallo.

Cuadro 4. Análisis de los incrementos de las variables de desarrollo del ecotipo "COLIMA" de *Gliricidia sepium* en condiciones de invernadero.

dds	Número de nódulos	Longitud de tallo (cm)	Diámetro basal (cm)	Materia fresca de vástago (mg)	Materia seca de vástago (mg)
20	0.00 b	5.53 a	0.31 a	808.00 a	31.50 a
40	1.88 b	1.63 c	0.02 b	0.00 c	40.30 a
60	8.94 a	3.03 b	0.04 b	80.00 c	50.00 a
80	10.10 a	1.76 c	0.02 b	418.00 b	61.60 a
	Número de hojas	Inserción 1° hoja (cm)	Materia fresca de hojas (mg)	Materia seca de hojas (mg)	Relación hoja/tallo
20	4.44 a	4.57 a	236.00 c	41.30 b	0.28 c
40	1.75 b	0.24 b	575.00 bc	113.12 ab	1.22 bc
60	1.88 b	1.09 b	1190.00 a	115.62 ab	4.14 a
80	0.88 b	0.60 b	839.00 ab	180.00 a	2.74 ab
	Longitud de raíz (cm)	Materia fresca de raíz (mg)	Materia seca de raíz (mg)	Velocidad de crecimiento (cm día ⁻¹)	
20	5.93 a	123.00 b	23.80 b	0.27 a	
40	7.01 a	278.00 b	23.10 b	0.18 b	
60	7.73 a	540.00 a	70.60 a	0.17 b	
80	6.41 a	33.60 b	65.62 a	0.14 c	

Medias con letras iguales en las columnas, no son estadísticamente diferentes (Tukey ≤ 0.05).

CONCLUSIONES

La emergencia de *G. sepium* tiene un máximo del 77 % y está condicionada a la respuesta genética del ecotipo. Existen diferencias entre los ecotipos de *G. sepium* estudiados, en las variables de crecimiento de las primeras etapas de desarrollo.

El comportamiento de las variables de crecimiento de *G. sepium* y la nodulación dentro de los ecotipos estudiados presentó diferencias, superando el ecotipo Colima al ecotipo Morelos. En condiciones controladas la variación en el comportamiento de los parámetros de crecimiento se debe a la respuesta del genotipo.

LITERATURA CITADA

- Acosta-Durán C.M. y Martínez-Romero E. 2002. Diversity of rhizobia from nodules of the leguminous tree *Gliricidia sepium*, a natural host of *Rhizobium tropici*. Arch. Microbiol. 178: 161-164.
- Atta-Krah A.N., Sumberg J.E. and Reynolds L. 1986. Leguminous fodder tree in Farming Systems, in: Potential of Forage Legumes in Farming Systems in Sus-Sahara Africa, Addis Ababa, Ethiopia, International Livestock Centre for Africa (ILCA).
- Awonaike K.O. and G. Hardarson. 1992. Biological Nitrogen Fixation of *Gliricidia sepium*/Rhizobium symbiosis as influenced by plant genotype, bacterial strain and their interactions. Trop. Agric.(Trinidad). 69(4): 381-385.
- Francisco G. y Hernández I. 1998. *Gliricidia sepium* (JACQ) KUNT. y WALP., árbol multipropósito para una ganadería sostenible. Pastos y Forrajes 21: 191-204.
- Gómez, M.E., C.H. Molina, E.J. Molina y E. Murguieitio. 1990. Producción de biomasa en seis ecotipos de matarratón (*Gliricidia sepium*). Livestock Research for Rural Development 2 (2): 1-11.
- Harrington J.F. 1972. Seed storage and longevity. In: Kozlowski T.T. (ed.) Seed Biology. New York, Academic Press, vol.31: 45-245.
- Hughes C. 1987. Biological considerations in designing a seed collection strategy for *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud. (Leguminosae). Commonwealth Forestry Review 66: 31-48.
- Liyanage L.V.K. and Jayasundara H.P.S. 1988. *Gliricidia* as a multi-purpose tree for coconut plantations. Coconut Bull. 5, 1-4.
- Liyanage M. de S., Jayasundara H.P.S. and Fernando W.S.M.A. 1990. *Gliricidia sepium* as a supplementary fodder for dairy cattle. Nitrogen Fixing Tree Research Reports 8, 138-139.
- Liyanage M. de S., Danso S.K.A. and Jayasundara H.P.S. 1994. Biological nitrogen fixation in four *Gliricidia sepium* genotypes. Plant and soil 161, 267-274.
- Onwuka C.F.I. 1984. *Gliricidia sepium* as dry season feed for goat production in Nigeria. Proceedings of the first AABNF Meeting, Nairobi, The Nairobi Rhizobium MIRCEN Nairobi. pp 533-539.
- Palma G.J.M. 1999. Experiencias en la utilización de la leguminosa arbórea *Gliricidia sepium*. Sistemas silvopastoriles, una opción para la producción animal sostenible. Ed. Universidad de Colima. Mexico. 86 pp.
- Parrotta, J. 1992. *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. *Gliricidia* mother of cocoa. SO-ITF-SM-50. New Orleans, LA:U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 7 p.
- Peoples M.B., Herridge D.F. and Ladha J.K. 1995. Biological nitrogen fixation: An efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production. Plant and soil 174: 3-28.
- Sanguingua N., Manrique K., and Hardarson G. 1991. Variation in nodulation and N₂ fixation by the *Gliricidia sepium*/Rhizobium spp. Symbiosis in calcareous soil. Biol. Ferti. Soils 11, 273-278.
- Sanguingua N., Vanlawe B. and Danso S.K.A. 1995. Management of biological N₂ Fixation in alley cropping systems: Estimation and contribution to N balance. Plant and soil. 174: 119- 141.