

30985

INTERACCION MICORRIZA VESICULO-ARBUSCULAR *Rhizobium*-*LLGUMINOSA* EN UN OXISOL DE LOS LLANOS ORIENTALES DE COLOMBIA

Jorge H. Satizabal E.*
Saif Ur Rehman Saif**

COMPENDIO

En los dos primeros trabajos (Ia y Ib) se evaluo la interaccion entre cepas seleccionadas de *Rhizobium* (apropiadas para la leguminosa forrajera tropical *Centrosema macrocarpum*) y especies (*Entrophospora colombiana* *Acaulospora longula* *Glomus manihotis*) de micorriza vesiculo arbuscular (MVA) en un suelo esterilizado fijador de P. Los experimentos se diferenciaron por las fuentes de P utilizadas. Por su mayor produccion de materia seca absorcion de minerales nodulacion y infeccion por MVA se destacaron las plantas inoculadas con cualesquiera de las cepas de *Rhizobium* y *Glomus manihotis* (Experimento Ia) o *Acaulospora longula* (Experimento Ib). En la tercera investigacion (Experimento II) se evaluo en *Centrosema* la interaccion MVA *Rhizobium* o N-quimico (niveles equivalentes a 0 30 55 105 0 + *Rhiz* y 30 + *Rhiz* kg N ha⁻¹) y dosis de P (0 20 40 y 80 kg ha⁻¹). Es aconsejable aplicar pequeñas dosis (30 kg ha⁻¹) de N al momento de la siembra e inocular con *Rhizobium*. Plantas inoculadas con MVA presentaron su optimo crecimiento con 40 kg P ha⁻¹. Dosis de 80 kg P ha⁻¹ favorecio la eficiencia de la bacteria mas no la del hongo.

ABSTRACT

In the first two works (Ia and Ib) we evaluated the interaction between selected stumps of *Rhizobium* (appropriate for the tropical forage legumes *Centrosema macrocarpum*) and species (*Entrophospora colombiana* *Acaulospora longula* *Glomus manihotis*) of vesicular arbuscular mycorrhiza (MVA) in a sterilized soil fixer of P. The two experiments are different because we used different P sources. For the best production of dry matter absorption of minerals nodulation and infection for MVA rebounded the plants with the inoculation with any of the *Rhizobium*'s stumps and *Glomus manihotis* (Experiment Ia) of *Acaulospora longula* (Experiment Ib). In the third investigation (Experiment II) we evaluated in *Centrosema* the interaction MVA *Rhizobium* and chemical N (levels equivalent to 0 30 55 105 0 + *Rhizobium* and 30 + *Rhizobium* kg N ha⁻¹) and amount of P (0 20 40 and 80 kg ha⁻¹). Is advisable to apply small amount (30 kg ha⁻¹) of N fertilizer at the time of sowing the *Centrosema* and the inoculation with *Rhizobium*. The plants inoculated with MVA showed a best growing in the amount 40kg Pha⁻¹ 80 kg Pha⁻¹ helped in the efficacy of the bacterium and it didn't help in the efficacy of the fungus.

* Estudiante de post-grado Universidad Nacional de Colombia Palmira
** Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT A.A. 6713 Colombia

CENTRO DE ECOLOGIA Y MEDIO AMBIENTE

1 INTRODUCCION

América Latina tropical tiene la posibilidad de extender su frontera agrícola en las vastas regiones interiores de 850 millones de hectáreas en sabanas tropicales y bosques húmedos. Muchas de estas áreas están siendo colonizadas rápidamente, pero la baja fertilidad de los principales suelos clasificados como Oxisoles o Ultisoles y la infraestructura deficiente limitan su progreso. En estas condiciones, la producción de carne bovina es usualmente la actividad inicial más efectiva, pero se ve obstaculizada en alto grado por la poca disponibilidad de forraje durante parte o todo el año.

Por resultar anti-económica la corrección de la baja fertilidad natural de dichos suelos, es necesario desarrollar tecnología de producción de pasturas de bajos costos e insumos, aprovechando ciertos microorganismos (*Rhizobium* y Micorriza Vesículo Arbuscular, MVA) capaces de formar asociación simbiótica mutualista con las plantas y de intervenir en los ciclos de algunos elementos esenciales para los vegetales. Buscando en lo posible, obtener tasas económicas de fertilización que mantengan o incrementen los rendimientos de las pasturas.

La fijación por la asociación *Rhizobium* leguminosa es el sistema de mayor importancia de todos los implicados en el aporte de nitrógeno al suelo (Munevar, 12) y depende de la presencia de una cepa efectiva de *Rhizobium* que infecte la raíz de la leguminosa (Bradley, 2). Como la asociación tiene alto requerimiento de P las raíces y los nódulos compiten por los fosfatos del suelo (Mosse y Hayman, 10), llegando los nódulos a contener de dos a tres veces más P por unidad de materia seca que las raíces en las cuales se desarrollan (Dommergues y Diem, 5).

Las MVA tienen efectos importantes en la disponibilidad de P y la mayoría de las leguminosas, por tener un sistema radical relativamente restringido, responden favorablemente a la infección por el hongo (Mosse, 8; Mosse, 11; Saif, 14).

Los hongos productores de MVA son miembros de la familia Endogonaceae, a la cual pertenecen diferentes géneros: *Endogone*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glaziella*, *Glomus* y *Sclerocystis* (Gerdeman y Trappe, 6) de estos solo el primero no forma MVA.

El hongo del tipo MVA se caracteriza porque sus hifas penetran en la raíz de forma inter e intracelularmente (Frank citado por Trappe y Schenck 18), siendo esta la fase de contacto más íntima entre el hongo y su hospedero (Mosse 11). El micelio del endofito fuera de la raíz constituye una superficie absorbente adicional, que le permite a las raíces de las plantas

extenderse mas alla de la zona de agotamiento de P (Mosse, 9 y 11)

La coexistencia de los dos microorganismos (bacteria-hongo) en las raices de las leguminosas, establece una asociacion simbiotica tripartita de gran importancia desde el punto de vista agricola y ecologico. Su efecto benefico es particularmente promisorio en regiones tales como los Llanos Orientales de Colombia, con suelos deficientes en N y P. En sintesis, considerando que gran extension de suelos potencialmente explotables en América Latina tropical presentan severas deficiencias en nutrientes esenciales para los vegetales, y siendo las leguminosas forrajeras una rica fuente de proteina para consumo animal, las investigaciones sobre como utilizar mejor y mas ampliamente la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa-MVA en las pasturas, es una prioridad apremiante para encontrar alternativas al uso de los fertilizantes

2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

En el invernadero del Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT, (humedad relativa 60 a 70 o/o, temperatura media 27°C, máxima 33 y mínima 23°C) se diseñaron tres trabajos experimentales distribuyendo completamente al azar las unidades experimentales (potes o materas), con arreglo factorial de los tratamientos y cuatro repeticiones

En los dos primeros ensayos (Ia y Ib), se midio en terminos de materia seca (en Ib solo se evaluo esta variable), absorcion de N y de P, peso seco nodulos e infeccion por micorriza en *Centrosema macrocarpum* CIAT 5065, el efecto de la interaccion de cepas seleccionadas de *Rhizobium* y especies de micorriza vesiculo-arbuscular

En el primer experimento (Ia) se utilizo inicialmente la roca fosforica de Huila y dos meses despues de la siembra el fosfato monocalcico (20 kg P ha⁻¹). En el segundo (Ib) solo se utilizaron 40 kg P ha⁻¹ y como fuente el fosfato monocalcico. En los dos trabajos se realizo similar fertilizacion basica (K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, B, Mo)

Con las cepas seleccionadas de *Rhizobium* (CIAT R₁ = 1780, R₂ = 1670, R₃ = 3334, R_{*} = mezcla de las tres, R⁻ = testigo sin *Rhizobium* y el control con N*) apropiadas para *Centrosema* y las especies de MVA (M₁ = *Entrophospora colombiana*, M₂ = *Acaulospora longula*, M₃ = *Glomus manihottis*, M_{*} = la mezcla de las tres y M⁻ = el testigo) se realizaron las combinaciones que originaron 30 tratamientos. Aproximadamente 10⁹ bacilos (1 ml de extracto liquido de levadura-manitol) de *Rhizobium* (Bradley, 3) y 100 esporas de MVA se aplicaron por pote (Sieverding, 17)

En la tercera investigación (Experimento II), se evaluó en la planta de *Centrosema* la interacción MVA, *Rhizobium* o N-químico y dosis de P. Los tratamientos conformaron un factorial 6x4x2 en el cual seis son los niveles de N (0, 30, 55, 105, 0 + R, 30 + R kg ha⁻¹), cuatro las dosis de P (0, 20, 40, 80 kg ha⁻¹) y dos la inoculación con y sin MVA. El Oxisol también se sometió a una fertilización básica.

El inoculante de MVA (10 g/pote) consistió de una mezcla de raíces de *Braquiaria decumbens* infectadas con especies puras. Como inoculante de *Rhizobium* (10⁹ bacilos/pote) se utilizó la cepa CIAT 3334 apropiada para *Centrosema*. Como fuente de N y de P se usaron la urea 46 o/o, el nitrato cálcico (5 kg N ha⁻¹) y el fosfato monocalcico.

En la planta indicadora los tratamientos se evaluaron por peso seco de la parte aérea y de las raíces, absorción total de N, P, K, Ca y Mg, número y peso seco de los nódulos y o/o de infección por MVA en la raíz.

3 RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Combinación de cepas seleccionadas de *Rhizobium* y especies de MVA

En general, en los tratamientos con *Rhizobium* pero sin MVA (Fig. 1a) se observaron diferencias entre las cepas evaluadas siendo sus valores inferiores a los del testigo (R⁻ M⁻) o al del control N⁺. Dicha inferioridad puede atribuirse a la extracción de carbohidratos de la planta huésped por la bacteria o a la competencia entre las raíces y los nódulos por los nutrientes del suelo, especialmente por fosfatos (Mosse y Hayman, 10).

Cuando a las plantas de *Centrosema* además de *Rhizobium* se las inoculó con MVA (Figura 1b, c, d, e, f, g), los rendimientos de materia seca y absorción de N y P, se incrementaron en proporciones considerables. Este comportamiento se atribuye a que la MVA le permitió a *Rhizobium* o a *Centrosema* aprovechar más eficazmente el fosfato presente en el suelo (Crush, 4, Lopez et al, 7, Mosse 9, Munns y Mosse, 13, Saif, 14).

No se presentaron diferencias significativas entre las cepas de *Rhizobium* evaluadas, lo cual sí ocurrió entre las especies de MVA. La tendencia de la producción en *Centrosema* debido a la micorriza decreció en el siguiente orden: M₃ ≥ M* ≥ M₁ ≥ M₂ ≥ M⁻.

Glomus manihotis (M₃) tuvo mayor capacidad de infección de las raíces y desarrollo más hifas externas, la cual favoreció la captación y absorción de algunos nutrientes esenciales para los vegetales, incremento el crecimiento de *Centrosema* y la actividad del *Rhizobium*.

Los valores obtenidos de los tratamientos con N^+ (Fig 1g) indican que las plantas de *Centrosema* infectadas con el hongo, se ven favorecidas por la aplicación de N al suelo. Este hecho crea la inquietud de que posiblemente el hongo tenga que ver con el transporte de N a la planta (Ames et al, 1)

3.2 Experimento Ib

Los promedios de peso seco de la parte aérea correlacionaron significativamente $r = 0.83$ con los obtenidos de la raíz (Fig 2)

Las plantas inoculadas con cepas de *Rhizobium* y sin MVA (Fig 2a) superaron al testigo (R^-), posiblemente por la mayor disponibilidad (solo se usó la fuente soluble) de fósforo en el suelo.

La producción de materia seca en *Centrosema* se incrementó más cuando se inoculó la MVA (Fig 2b, c, d, e, g), sin presentar diferencias significativas entre las cepas de *Rhizobium* pero sí entre las especies de MVA que se ordenaron de la siguiente forma $M_2 > M_* \geq M_3 \geq M_1 \geq M^-$

Por la fuente de P utilizada, *Acaulospora longula* (M_2) tuvo más habilidad para responder y aprovechar rápidamente el fosfato soluble aplicado al suelo y proporcionarle a la planta de *Centrosema* superiores beneficios.

Lo descrito anteriormente sugiere que es difícil generalizar sobre la interacción *Rhizobium*-MVA y con mayor razón, cuando apenas se empiezan a estudiar los mecanismos responsables del aumento o disminución de la susceptibilidad de las plantas micotróficas al hongo.

En los tratamientos sin *Rhizobium* (Fig 2f) el rendimiento de la parte aérea de *Centrosema* fue inferior al de las plantas que crecieron solo con cepas de *Rhizobium* o N^+ (Fig 2a). Al comparar los promedios generales para tratamientos sin M^- ($\bar{X} = 1.57$) y sin R^- ($\bar{X} = 1.17$), podría afirmarse que la leguminosa se vio favorecida más por el aporte del *Rhizobium* que por los de la MVA.

La actividad y eficiencia de las especies de micorrizas sin presencia de *Rhizobium* puede ser limitada por diversos factores (Dommergues y Decm, 5), pero en esta investigación se atribuye a la cantidad de fosfato (Mosse, 8, Sanders y Tinker 15, Sanders 16) o al relativamente poco N disponible en el suelo, necesario para el crecimiento de la planta o posiblemente también para la actividad del hongo (Ames et al, 1).

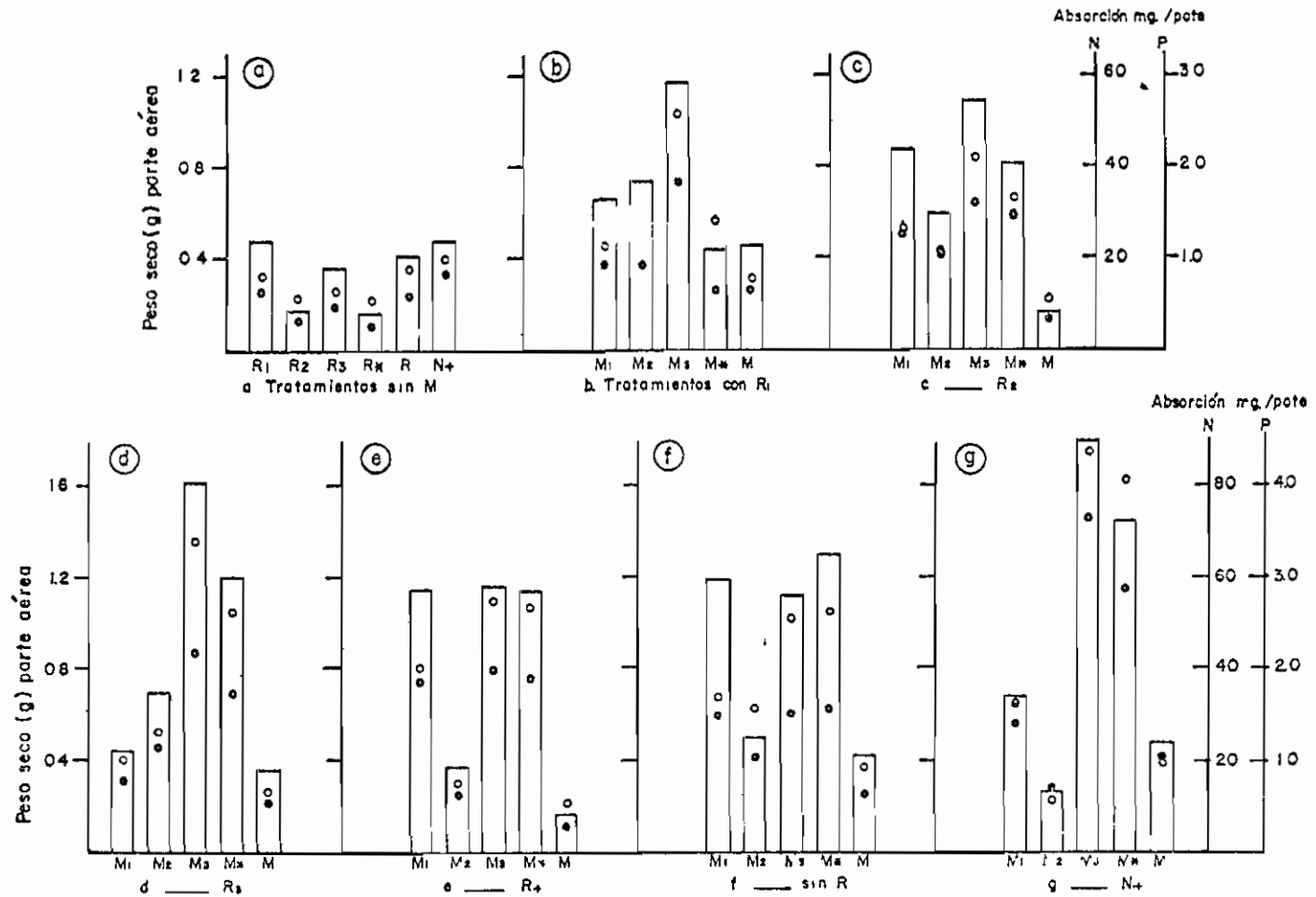


Fig 1 Comparación de valores promedio de tratamientos Variables peso seco parte aérea (barras y absorción total de N(●) y P(○) Experimento 1a

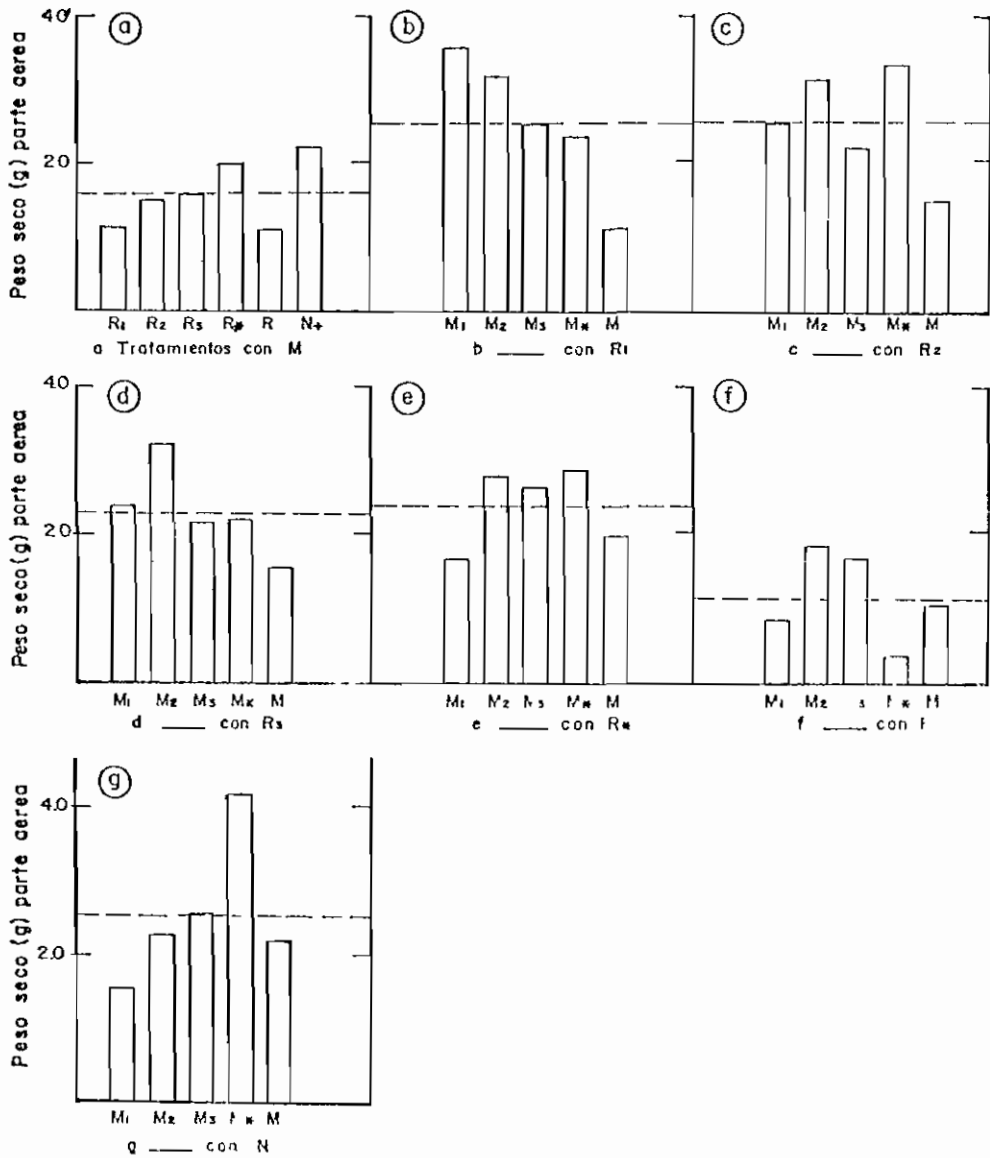


Fig. 2 Comparación de valores prome los tratamientos. Peso seco parte aerea. Experimento Ib

Opinion que se sustenta al comparar los pesos seco de la parte aerea de plantas con $R^- M_*$ ($\bar{X}=0.36$), $R_2 M_1$ ($\bar{X}=3.34$), $N^+ M_*$ ($\bar{X}=4.17$), lo cual indicaria que algunas especies de MVA requieren (ademas de P) cierto suministro de N para su mejor actividad, dicho elemento puede ser aportado por el suelo, los fertilizantes o el *Rhizobium*

3.3 Interaccion MVA, *Rhizobium* o N-quimico y dosis de P en el suelo

En general, los promedios de peso seco de la parte aerea y de las raices de *Centrosema* fueron mayores en los tratamientos (Fig. 3 o 4, e y f) donde se inoculo *Rhizobium* destacandose aun mas los tratamientos con 30 kg $N\ ha^{-1}$ + *Rhizobium*

Teniendo como base este resultado, se puede aconsejar que al momento de la siembra de *Centrosema* se incluya una pequeña cantidad de N con el fin de reducir la competencia de la bacteria por nutrientes y carbohidratos, de asegurar y promover en la leguminosa el crecimiento de tejido inicial, al menos hasta que el *Rhizobium* pueda establecerse en sus raices y empiece a fijar N_2 atmosferico. Aplicaciones mayores o continuadas de N posiblemente reducen la actividad del *Rhizobium* (Bradley, 3) y generalmente son antieconomicas

La produccion de materia seca en plantas de *Centrosema* que crecieron sin inoculo de MVA, tuvo un incremento positivo y proporcional a la dosis de P. Este resultado confirma la importancia del fosforo en la nutricion de las plantas, especialmente en aquellas leguminosas forrajeras seleccionadas y destinadas a crecer en regiones marginales, como los Llanos Orientales de Colombia, con suelos pobres y fijadores de P

Cuando ademas de la fertilizacion fosforada se inoculo MVA, los rendimientos en terminos de peso de la parte aerea y de las raices aumentaron en proporciones muy considerables, destacandose en los tratamientos con N-quimico, las plantas que crecieron en la dosis 40 kg $P\ ha^{-1}$. Niveles mayores de P (80 kg ha^{-1}) tendieron a ser perjudiciales para las plantas micorrizadas

Este resultado indica que con la apropiada inoculacion al suelo de MVA es posible incrementar significativamente la produccion de forraje y reducir las tasas de aplicacion de P hasta o en mas de un 50 o/o ademas reafirma que la aplicacion al suelo de dosis altas de P generalmente reducen la actividad de la MVA (Mosse, 8 Sanders y Tinker 15 Sanders, 16)

Caso contrario manifestaron las plantas de *Centrosema* inoculadas con *Rhizobium* y MVA, que crecieron en el suelo tratado con dosis altas de P

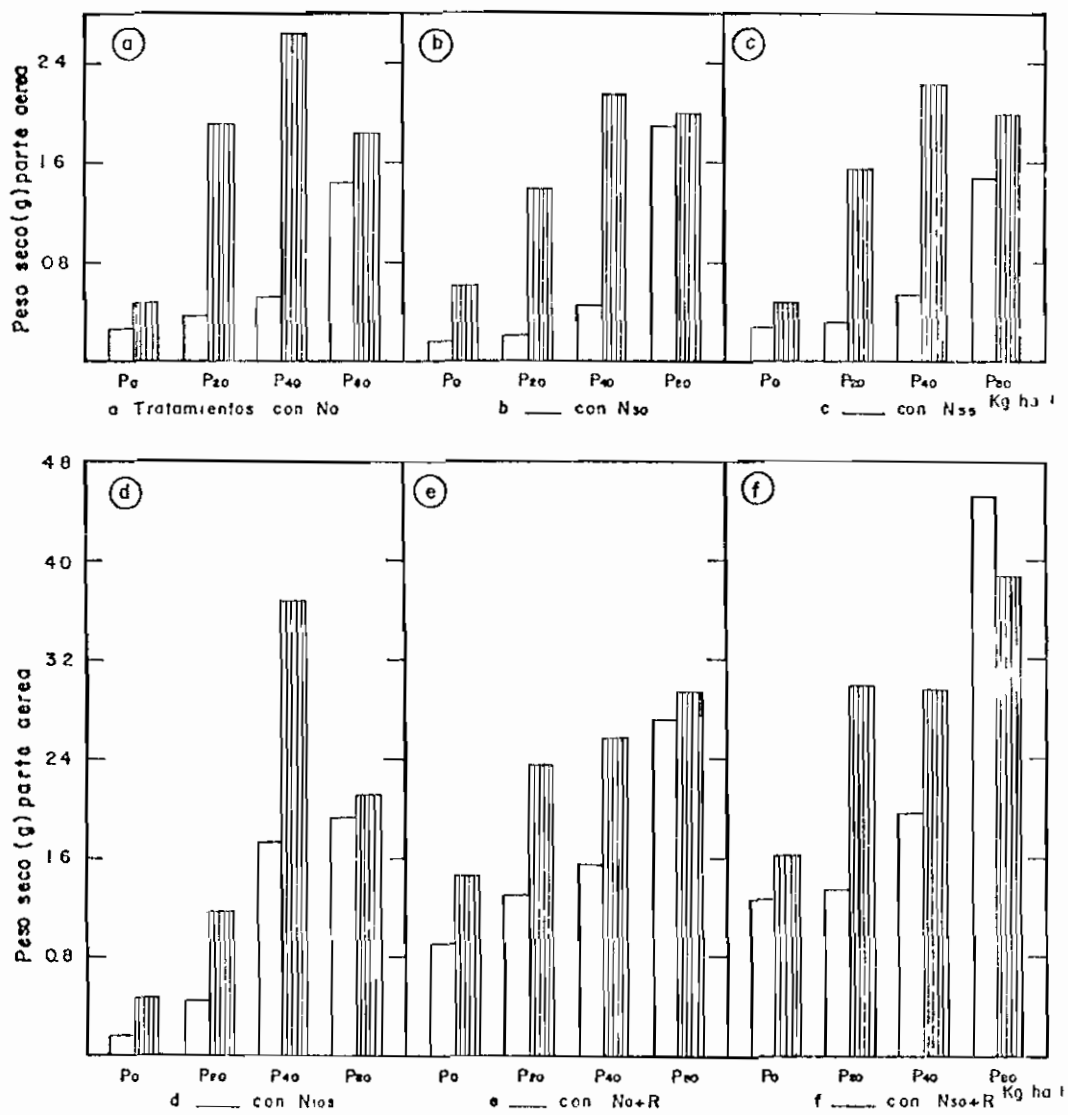


Fig 3 Comparacion de valores promedio Peso seco parte aerea con y sin inoculo MVA Experimento II

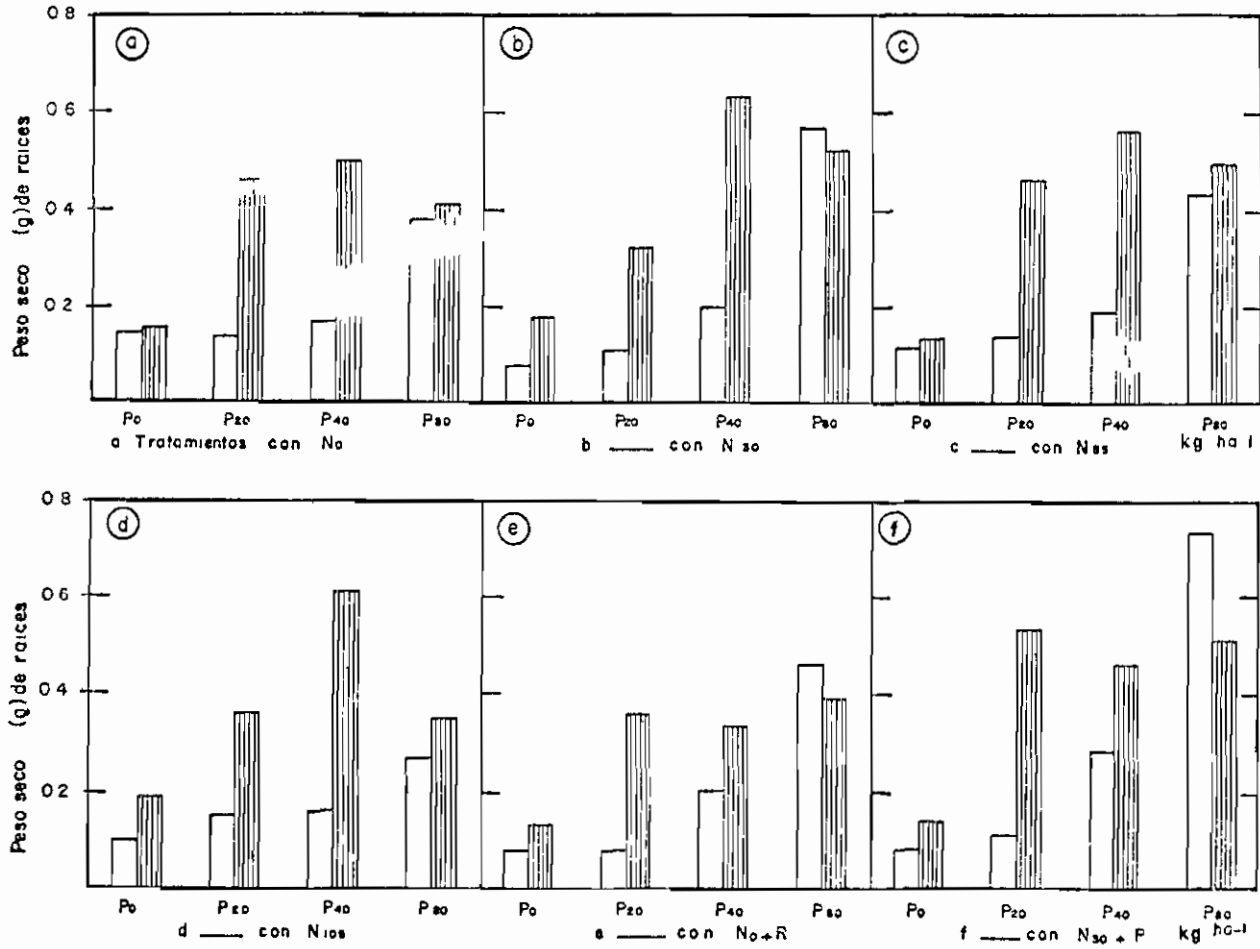




Fig 4 Comparación de valores promedio Peso seco de las raíces con  y sin  inóculo de MVA Experimento II

En dichos tratamientos no se presentaron tendencias decrecientes en la producción de materia seca debido seguramente a los altos requerimientos de P que tiene la fijación simbiótica de nitrógeno por *Rhizobium*-leguminosa. Gran parte de este elemento pudo ser suplido por la infección de MVA pues cuando se inoculó el hongo la nodulación se presentó a partir de 20 kg P ha⁻¹, siendo los nódulos más grandes y pesados en la dosis de 80 kg P ha⁻¹. En plantas no micorrizadas solo se presentó nodulación en el nivel más alto de P.

Las plantas de *Centrosema* se desarrollaron mejor en los tratamientos N₃₀ + R y P₈₀, con (M⁺) y sin (M⁻) micorriza. Este último tratamiento, con relación al testigo (N₀, P₀ y M⁻) absoluto, fue mayor en peso seco de la parte aérea y de las raíces quince y siete veces, respectivamente.

En plantas inoculadas con MVA que crecieron en dosis de P inferiores a 40 kg ha⁻¹, ocurrió una interacción beneficiosa para la absorción total de algunos minerales esenciales. Dosis superiores de fosfato en general son supra-óptimas para la captación de N (Fig. 5), P (Fig. 6), K, Ca y Mg. Estos resultados pueden interpretarse sobre la base de que los tejidos vegetales de las plantas con MVA tratadas con diferentes niveles de N, obtuvieron su respectiva "concentración crítica" de P (Mosse, 8) cuando se aplicó al suelo la dosis de 40 kg P ha⁻¹.

Los valores promedio de absorción correspondientes a la dosis cero P fueron mayores en los tratamientos (N₀ + R y N₃₀ + R) con *Rhizobium* destacándose aun más las plantas tratadas con MVA. De ello se deduce el apreciable 'grado de dependencia' que tiene la leguminosa forrajera *Centrosema macrocarpum* del *Rhizobium* y la MVA, para alcanzar en las condiciones experimentales óptimo desarrollo y mejor absorción de nutrientes, circunstancia que no se logra con el exclusivo aporte de fertilizantes químicos.

4 CONCLUSIONES

- 4.1 Las combinaciones de *Rhizobium*-MVA que, en general sobresalieron por su mayor producción en términos de materia seca, absorción total de minerales, nodulación e infección por MVA, correspondieron a las que tenían *Rhizobium* (cualquiera de las cepas evaluadas) con *Glomus manihotis* (Experimento Ia) o *Acaulospora longula* (Experimento Ib).
- 4.2 Es aconsejable al momento de la siembra de *Centrosema* aplicar dosis pequeñas de N que aseguren y promuevan el crecimiento de la leguminosa al menos hasta que *Rhizobium* pueda establecerse en sus raíces y empiece a fijar N₂ atmosférico.

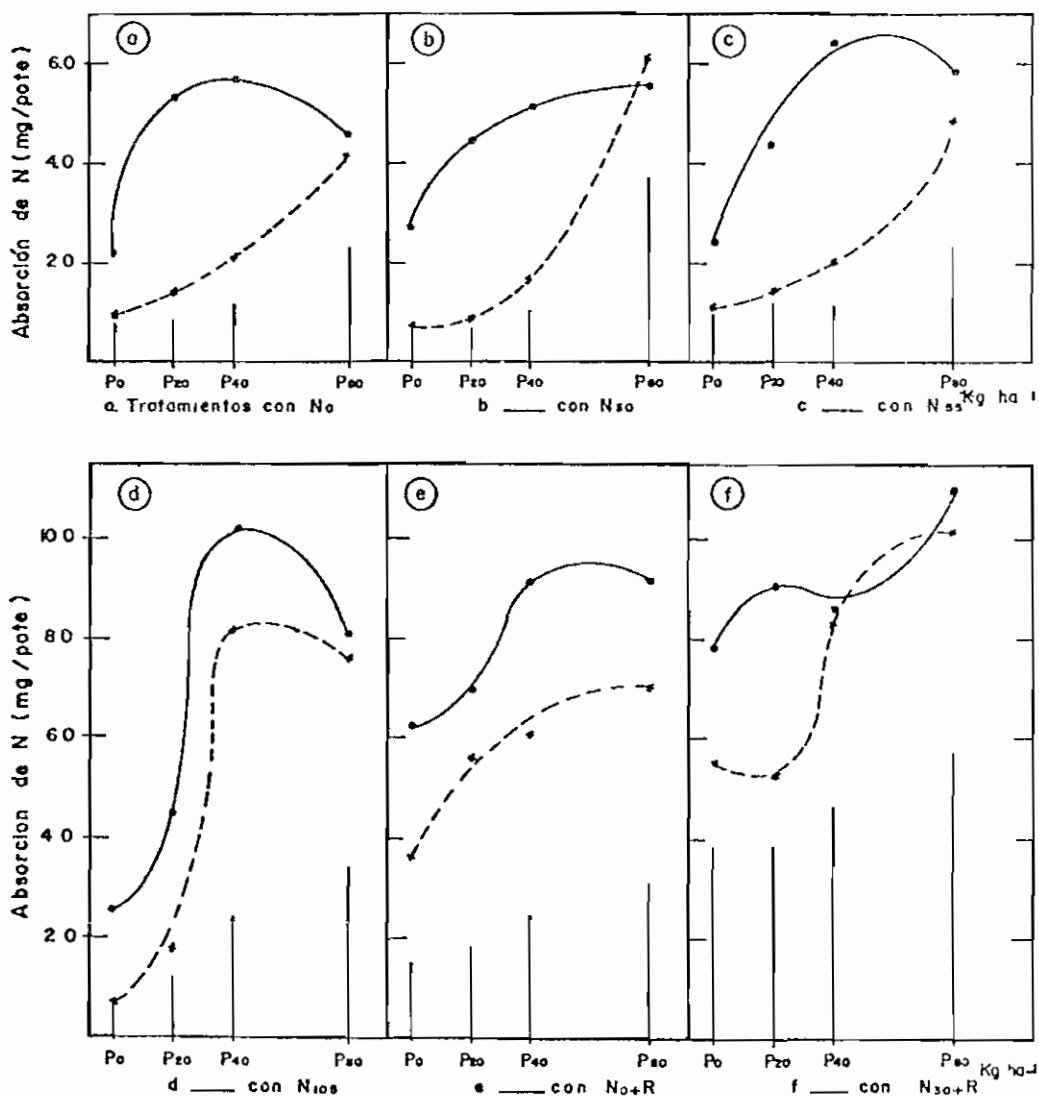


Fig 5 Comparación de promedios de tratamientos para la variable absorción de N (mg/pote) Interacción N x P x M (— con y --- sin inóculo micorriza) Experimento II

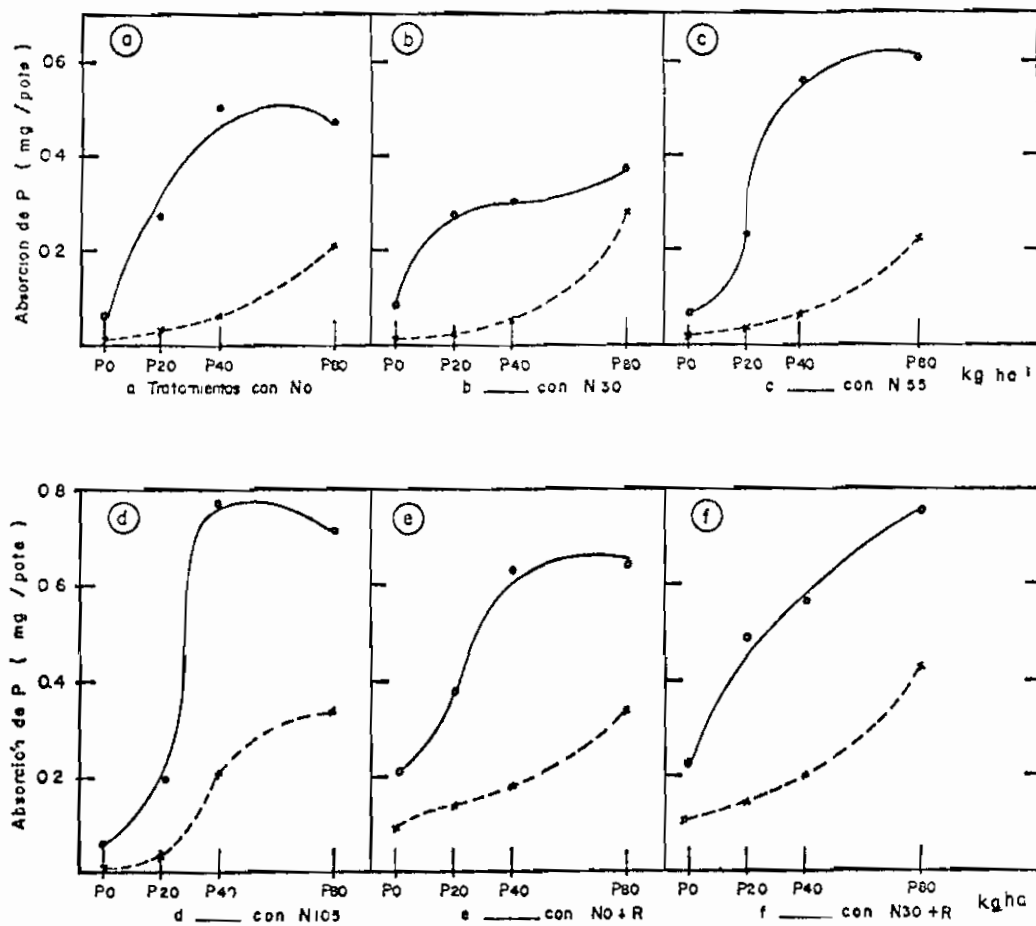


Fig 6 Comparación de promedios de tratamientos para la variable absorción de P (mg/pote) Interacción N x P x M (— con y --- sin inóculo micorriza) Experimento II

- 4 3 Dosis de P equivalentes a 40 kg ha^{-1} , en las condiciones estudiadas cooperaron sinérgicamente con la MVA en la estimulación del crecimiento, nodulación y nutrición de la leguminosa forrajera. Dosis superiores de P tienden a afectar negativamente la productividad de las plantas micorrizadas pero no la nodulación de las mismas.
- 4 4 Con la inoculación al suelo de especies apropiadas de MVA, es posible aumentar la producción de materia seca de *Centrosema*, absorción de ciertos nutrientes y el peso seco de nodulos, como también reducir en más de un 50 o/o la tasa de fertilización fosfórica.

5 BIBLIOGRAFIA

- 1 AMES R N REID C P P PORTER L K CAMBARDELLA C Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ^{15}N labelled sources by *Glomus mosseae* a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytol* (Inglaterra) v 95 p 381-396 1983
- 2 BRADLEY R S Fijación biológica de nitrógeno por leguminosas aspectos agronómicos relacionados con su inoculación con *Rhizobium*. *Suelos Ecuatoriales* (Colombia) v 13 n 2 p 28-35 1983
- 3 ———— Métodos usados en CIAT para estudiar la Rizobiología de leguminosas forrajeras tropicales. Cali 1984 (sin publicar)
- 4 CRUSH J R Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza VII. Growth and nodulation of some herbage legumes. *New Phytol* (Inglaterra) v 73 p 743-749 1974
- 5 DOMMERGUES Y R DIEM H G (eds) *Microbiology of Tropical Soils and Plant Productivity*. Boston Hague 1982
- 6 GERDEMANN J W FRAPPE J M The Endogonaceae of the Pacific Northwest. *Mycol Mem* (EE UU) v 5 p 77 1974
- 7 LOPEZ S E OLIVEIRA E DE NEPTUNE A M L Efecto de especies de micorrizas vesicular arbusculares en siratro (*Macroptilium atropurpureum*). *Bragantia* (Brasil) v 39 n 241-245 1980
- 8 MOSSE B Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza IV. In soil given additional phosphate. (Inglaterra) v 72 p 127-136 1973
- 9 ———— The role of mycorrhiza in legume nutrition on marginal soil. En VICENT J M WHINEY A S BOSE J (eds) *Exploiting the legume Rhizobium symbiosis in tropical agriculture*. Univ of Hawaii 1977 p 275-292 1977 (Misc Publ 145)
- 10 ———— HAYMAN D S Mycorrhiza in agricultural plants. En MIKOLA D (ed) *Tropical mycorrhiza research*. Clarendon Press Oxford 1980 p 213-230

- 11 MOSSE B Vesicular-arbuscular mycorrhizae research for tropical agriculture University of Hawaii Res Bull 194 August 1981
- 12 MUNEVAR M F Principales procesos microbiologicos en el suelo y su funcion en la productividad agropecuaria Suelos Ecuatorianos (Colombia) v 13 n 2 p 7 17 1983
- 13 MUNNS D N MOSSE B Mineral nutrition of legume crops En SUMMERFIELD R I BUNTING A H (eds) Advances in legume science Internat Legume Conf Kew 1978 Proc p 115 128
- 14 SAIF S R Respuesta de plantas forrajeras tropicales a las aplicaciones de roca fosforica y micorriza en un oxisol no esterilizado En RICALDI V ESCALERA S (eds) La roca fosforica Cochabamba 1984 p 309 327
- 15 SANDERS F E TINKER P B Phosphate flow into mycorrhizal roots Pestic Sci (Inglaterra) v 4 p 385 395 1973
- 16 ————— The effect of foliar applied phosphate on the micorrhizal infections of onion roots En SANDERS F E MOSSE B, TINKER P B (eds) Endomycorrhiza London Academic Press 1975 p 261 276
- 17 SIEVERDING E Manual de metodos para la investigacion de la micorriza vesiculo-arbuscular en el laboratorio Proyecto Micorriza Cali CIAT 1983 (no publicado)
- 18 TRAPPE J M SCHENCK N C Taxonomy of the fungi forming endomycorrhizae A vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonales) En SCHENCK N C (ed) Method and principles of mycorrhizal research Am Phytopathol Soc 1982 p 19