

Simbiosis entre rizobios y cuatro leguminosas tropicales adaptadas en Chiapas, México

M. J. Aguirre, M. Valdés y R. M. Silvester-Bradley*

Introducción

La deficiencia de nitrógeno es frecuente en los suelos de las regiones tropicales del mundo. Esta situación ha generado la necesidad de adicionar este nutrimento como fertilizante en la mayoría de las pasturas. En México, debido al alto costo de los fertilizantes, esta práctica sólo se realiza en los cultivos comerciales básicos para la alimentación de la población. Actualmente existe un notable interés en ese país por el desarrollo de leguminosas forrajeras y de sus rizobios específicos, capaces de simbiosis y de utilizar el N atmosférico, dando como resultado forraje de mejor calidad y disminución en los costos de producción.

Con la evaluación de la simbiosis rizobios-leguminosa se busca seleccionar germoplasma con capacidad para fijar N. Por otra parte, se sabe que en el suelo este nutrimento puede tener diferentes orígenes, siendo uno de ellos la perturbación del suelo, que ocasiona un aumento en su mineralización. Esta puede inhibir la nodulación en las leguminosas (Silvester-Bradley et al., 1983; de la Garza et al., 1987). Por esta razón en los ensayos sobre fijación de N se recomienda la utilización de suelo sin perturbar.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la simbiosis de varias cepas introducidas y nativas de *Bradyrhizobium* y su efecto en la producción de MS de partes de la planta y de la planta entera de cuatro leguminosas forrajeras cultivadas en suelo sin perturbar.

Materiales y métodos

El ensayo se realizó en el invernadero del campo experimental Costa de Chiapas, México, localizado a 15° 00' de latitud norte y 92° 30' de longitud oeste. Se utilizó un suelo arenoso proveniente de la estación experimental Jericó, con pH de 5.7, 2.6% de MO, 0.16% de N y 3.2 ppm de P. Para el establecimiento y evaluación del ensayo se siguió la metodología propuesta en el manual Simbiosis Leguminosa-Rizobio. Manual de Métodos de Evaluación, Selección y Manejo Agronómico (CIAT, 1988). Para extraer el suelo sin perturbar se utilizaron cilindros de PVC de 10 cm de diámetro y 25 cm de largo. Además de la inoculación con rizobio se incluyeron un tratamiento de 100 kg/ha de N divididos en cinco aplicaciones y un testigo; el P se aplicó en todos los tratamientos a razón de 50 kg/ha.

Las leguminosas y las cepas de rizobio (*Bradyrhizobium* spp.) utilizadas fueron: *Centrosema brasilianum* CIAT 5234 inoculado con las cepas CIAT 3101, 1670, 1780, 4778, 4779 y 3694; *Pueraria phaseoloides* CIAT 9900 inoculado con las cepas CIAT 643, 2434, 3287, 3648 y 3918; *C. macrocarpum* CIAT 5065 y *C.*

* Respectivamente: investigador del Programa de Forrajes en la Costa de Chiapas, Apartado Postal 96, 30700, Tapachula, México; profesor de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, Apartado Postal 63246, 02800, México, D. F.; y jefe de la sección de Microbiología de Suelos del Programa de Pastos Tropicales del CIAT, Apartado Aéreo 6713, Cali, Colombia.

pubescens CIAT 438 inoculados con la cepa CIAT 3101. El inoculante en medio con turba se aplicó a la siembra a razón de 0.1 g/cilindro. Inmediatamente, con el objeto de evitar contaminación entre los tratamientos, se aplicó en cada cilindro una capa de arena parafinada. Las plantas/cilindro fueron dos, las cuales se cosecharon nueve semanas después de la siembra para determinar la producción de MS y el número de nódulos/planta.

Los tratamientos se dispusieron en un diseño de bloque al azar con cinco repeticiones, y la comparación entre las medias de los tratamientos se hizo por la prueba de Tukey.

Resultados y discusión

Centrosema brasilianum CIAT 5234. Los resultados con este ecotipo muestran la alta efectividad de las cepas nativas, ya que con el testigo se alcanzaron rendimientos de MS similares a los obtenidos con la mayoría de las cepas utilizadas en el ensayo (Cuadro 1). Esto sugiere que con este ecotipo sin inocular se puede lograr en la zona de Chiapas una producción aceptable de MS. A pesar de que se observaron diferencias marcadas en los rendimientos de las partes de la planta, tallos y hojas, éstas no fueron significativas, como consecuencia del alto coeficiente de variación en las determinaciones (27%).

El mayor peso seco de la raíz se encontró en las plantas de *C. brasilianum* CIAT 5243 inoculadas con la cepa de rizobio CIAT 3101 y los menores en las plantas inoculadas con las cepas CIAT 3694 y 4778. Esto demuestra que el sistema radicular de este ecotipo responde en forma significativa a la inoculación ($P < 0.05$) con ciertas cepas de rizobio.

El número de nódulos/planta no varió entre tratamientos, siendo necesario mencionar que la aplicación de N no afectó la nodulación en este ecotipo. Esto es muy significativo, ya que indica que la aplicación de N hasta 100 kg/ha no afecta la nodulación de esta leguminosa, lo cual sí ocurre normalmente en la mayoría de las leguminosas forrajeras.

Pueraria phaseoloides CIAT 9900. Con esta leguminosa la cepa de rizobio CIAT 3918 dio los mejores resultados, tanto en la producción de MS de la parte aérea como de la raíz (Cuadro 1). Las demás cepas y el tratamiento con N dieron

resultados similares, mostrando que son promisorias para la inoculación de *P. phaseoloides*. El desarrollo de la raíz fue menor en las plantas del tratamiento testigo y el número de nódulos/planta igualmente fue menor cuando se aplicó N. La disminución en la cantidad de nódulos por efecto de la aplicación de N ha sido demostrada por varios investigadores (Valdés et al., 1984; Andrew y Johansen, 1978).

Centrosema macrocarpum CIAT 5065 y *C. pubescens* CIAT 438. Estos ecotipos produjeron la mayor cantidad de MS de la parte aérea y de la raíz cuando se aplicaron 100 kg/ha de N (Cuadro 1). El número de nódulos/planta en *C. macrocarpum* se redujo ($P < 0.05$) con la aplicación de N.

Es importante señalar que la cepa CIAT 3101 recomendada para *C. macrocarpum* (CIAT, 1988) no dio la mejor respuesta en las condiciones del presente ensayo, lo cual también se ha encontrado en otros trabajos (Valdés et al., 1984). Por lo tanto, debido a la importancia de *Centrosema* en la costa de Chiapas, es necesario continuar las investigaciones con cepas de rizobio específicas para esta leguminosa.

Producción de MS. La producción de MS se distribuyó principalmente en la parte aérea de la planta. La relación parte aérea/raíz en *C. brasilianum* CIAT 5234 varió entre tratamientos. La cepa de rizobio CIAT 3694 produjo el valor más alto (3.3). En *P. phaseoloides* CIAT 9900 la relación parte aérea/raíz fue mayor (2.7) con la cepa 2434 y menor (2.0) con las cepas 3918 y 3648. Estas variaciones fueron similares a las encontradas con *C. macrocarpum* y *C. pubescens*.

Conclusiones

De los resultados obtenidos en este ensayo se puede concluir lo siguiente: 1) el ecotipo *C. brasilianum* CIAT 5234 no respondió a la inoculación, y mostró una respuesta ligera a la aplicación de N, lo cual indica que con las cepas nativas de rizobio de la zona de Chiapas es posible alcanzar rendimientos de MS iguales a los obtenidos con la aplicación de 100 kg/ha de N. Los rendimientos de MS de las plantas fueron altos, lo cual contribuyó a la absorción del N aplicado. 2) Los ecotipos *C. macrocarpum* CIAT 5065 y *C. pubescens* CIAT 438 respondieron a la aplicación de N pero no a la inoculación y

Cuadro 1. Rendimiento de MS total y de partes de la planta de cuatro leguminosas forrajeras inoculadas con diferentes cepas de rizobio y con la aplicación de N.

Ecotipo	Rizobio CIAT No.	Rendimiento MS (g/cilindro)					Nódulos (no.)
		Total	Tallo	Hoja	Pecíolo	Raíz	
<i>C. brasilianum</i>							
CIAT 5234	3101	9.24ab*	2.50	3.54	0.52	2.68a	132
	1780	8.10ab	2.12	3.08	0.48	2.42ab	129
	1670	8.04ab	2.12	3.32	0.56	2.04bed	120
	3694	7.30b	2.00	3.20	0.42	1.68d	101
	4779	7.88ab	2.08	3.12	0.48	2.20abc	102
	4778	7.76ab	2.08	3.28	0.50	1.90cd	97
	N (100 kg/ha)	9.62a	2.60	4.18	0.42	2.34abc	94
	Testigo	7.38b	1.90	2.60	0.56	2.32abc	122
	—	ns	ns	—	—	ns	
<i>P. phaseoloides</i>							
CIAT 9900	3918	10.26a	2.36	3.54	0.76	3.20a	63ab
	3287	8.56ab	1.74	3.26	0.54	2.44ab	72a
	643	8.76ab	1.98	3.36	0.74	2.68ab	66a
	2434	8.76ab	2.16	3.60	0.68	2.32ab	70a
	3648	8.02b	1.88	2.82	0.72	2.60ab	74a
	N (100 kg/ha)	8.72ab	2.42	3.24	0.70	2.38ab	32b
	Testigo	7.76b	2.42	2.64	0.60	2.10b	70a
	—	ns	ns	ns	—	—	
<i>C. macrocarpum</i>							
CIAT 5065	3101	5.44b	2.36	2.48	0.60	3.08	119a
	N (100 kg/ha)	7.86a	3.46	3.68	0.72	3.46	44b
	Testigo	5.28b	2.44	2.34	0.50	2.76	105a
	—	ns	ns	—	ns	—	
<i>C. pubescens</i>							
CIAT 438	3101	5.92b	2.56	2.86b	0.50	2.38	197
	N (100 kg/ha)	7.36a	3.06	3.74a	0.50	3.18	126
	Testigo	5.88b	2.72	2.76b	0.40	2.64	190
	—	ns	—	—	ns	ns	

* Cantidades en una misma columna seguidas por letras iguales no difieren en forma significativa ($P < 0.05$), según la prueba de Tukey.

ns = no significativo.

nodularon abundantemente con las cepas nativas, lo cual sugiere que en las condiciones de Chiapas se requiere continuar la evaluación de cepas de rizobio, posiblemente aislamientos locales, para estas leguminosas. 3) *Pueraria phaseoloides* respondió en forma significativa a la inoculación con la cepa de rizobio CIAT 3918 (sinónimo TAL 647); pero el número de nódulos en la raíz no aumentó, lo cual indica que esta cepa compitió con las cepas nativas; y 4) la raíz en *C. brasilianum* CIAT 5234 y *P. phaseoloides*

CIAT 9900 fue altamente afectada por la inoculación.

Agradecimiento

Los autores agradecen al Programa de Desarrollo de las Naciones Unidas, por su colaboración financiera y a M. E. Velazco y H. Ramírez por su asistencia en la ejecución del presente trabajo.

Summary

At the experimental farm Costa de Chiapas, Mexico, symbiosis of introduced and native strains of *Bradyrhizobium* and its effect on DM production of plant parts and the whole plant of *Centrosema brasilianum* CIAT 5234, *Pueraria phaseoloides* CIAT 9900, *C. macrocarpum* CIAT 5065, and *C. pubescens* CIAT 438 as well as the number of nodes, were evaluated at nine weeks. An undisturbed sandy soil was used with pH = 5.7, 2.6% MO, 0.16% N, and 3.2 ppm of P. At planting, 50 kg/ha of P and 0.1 g/cylinder of inoculant in a peat medium were applied. A treatment consisting of the application of 100 kg/ha of N, divided into five applications, was included. The treatments were dispersed in random blocks with five repetitions and the results were compared by the Tukey test.

The results showed that with the native rhizobium strains from the Chiapas zone, *C. brasilianum* CIAT 5234 reached DM yields equal to those obtained with the application of 100 kg/ha of N. *Centrosema macrocarpum* CIAT 5056 and *C. pubescens* CIAT 438 responded to the application of N but not to inoculation. *P. phaseoloides* CIAT 9900 responded to inoculation with the rhizobium strain CIAT 3918 (whose synonym is TAL 647) but the number of root nodes did not increase, which indicates that this strain competed with the native strains. The roots in *C. brasilianum* CIAT 5234 and *P. phaseoloides* CIAT 9900 were highly affected by inoculation.

Referencias

- Andrew, C. S. y Johansen, C. 1978. Differences between pasture species in their requirements for nitrogen and phosphorus. En: Plant relations in pastures. Wilson, J. R. (ed.). CSIRO, Australia. p. 86-89.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1988. Simbiosis leguminosa-rizobio; manual de métodos de evaluación, selección y manejo agronómico. Sección de Microbiología de Suelos del Programa de Pastos Tropicales y Sección de Microbiología de Suelos del Programa de Frijol (comps.). Cali, Colombia. 178 p.
- de la Garza, H.; Valdés, M.; Aguirre, J. F. 1987. Effect of *Rhizobium* strains, phosphorus and soil type on nodulation and growth of *Leucaena leucocephala*. *Leucaena Res. Rep.* 8:42-43.
- Silvester-Bradley, R. M.; Ayarza, M. A.; Méndez, J. E. y Moriones, M. 1983. Use of undisturbed soil cores for evaluation of *Rhizobium* strain and methods for inoculation of tropical forage legumes in a Colombian Oxisol. *Plant and Soil* 74:237-247.
- Valdés, M.; Aguirre, J. F. y Velázquez, M. 1984. Eficiencia de tres cepas de *Rhizobium japonicum* para fijar nitrógeno y formar nódulos en soya (*Glycine max* (L) Merr.). *Agric. Tec. Mex.* 10:99-110.