

RESPUESTA DE *Phaseolus vulgaris* var. Negro Huasteco A LA INOCULACION CON TRES CEPAS DE *Rhizobium* BAJO CONDICIONES DE MINIMA LABRANZA EN TRES LOCALIDADES DE COSTA RICA ^{1/}*

Lidieth Uribe **

Oscar Acuña **

Germán Hernández ***

ABSTRACT

Response of *Phaseolus vulgaris* var. Negro Huasteco to inoculation with three strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* under minimum tillage conditions in three localities of Costa Rica. The response to inoculation of *Phaseolus vulgaris* var. Negro Huasteco with three strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* (CR 402, CR 409, CR 436b) was evaluated under conditions of minimum tillage in three locations: Monterrey, San Carlos; San Pedro, Pérez Zeledón and Las Brisas, Pérez Zeledón, Costa Rica. Peat-based inoculants were prepared using the rhizobia strains to be tested. They were applied to the soil at sowing. Two control treatments were used: one without nitrogen (-N) and the other with high-N fertilization. Dry weight of both nodules and shoots in the stages V4 and R6 were measured and the yield at physiological maturity was determined. Response to inoculation at development stage V4 was observed in the shoot dry weight in Las Brisas where the control with N had the highest nodules dry weight. The yield was improved with the N-fertilization and inoculation with the strains CR 436b and CR 409 at this location. In San Pedro the highest nodule dry weight was obtained with strain CR 436b; on the other hand, the highest yield values were obtained with the different strains and the -N control. At this place, the control with N produced the lowest yield probably because of weed competition. No response to the strains tested was observed in Monterrey, and the non-inoculated and -N treatments, both in Monterrey and San Pedro had good yields. This fact could indicate of the presence of effective native strains.

INTRODUCCION

El frijol es una de las leguminosas comestibles más importantes de Centro y Suramérica debido a su amplia distribución y por ser un complemento nutricional indispensable en la dieta de los pobladores de esas zonas (Debuck y Hidalgo, 1985).

En Costa Rica su cultivo está concentrado en pequeños y medianos agricultores que siembran extensiones de 1 a 3 ha utilizando diversos sistemas de producción como lo son el frijol tapado, espeque y mecanizado. En los dos primeros casos los agricultores buscan diferentes alternativas para la preparación del suelo, una de ellas es la siembra sin labranza en donde se prepara el terreno con una chapia o la aplicación de herbicida, y la otra es la mínima labranza en donde se reducen los pasos de preparación del terreno y las labores de siembra a fin de disminuir los costos en el establecimiento del cultivo. Sin embargo, la infertilidad del suelo así como el alto costo o la escasez de fertilizantes contribuyen a los bajos

1/ Recibido para publicación el 15 de diciembre de 1989.

* Trabajo financiado por el CIAT y la Vicerrectoría de Investigación (VI 733-86-107).

** Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

*** Consejo Nacional de Producción (CNP). San José, Costa Rica.

rendimientos observados (Rosas y Bliss, 1986a; 1986b).

Una alternativa viable para aumentar la producción y reducir los costos es la utilización de la simbiosis leguminosa-*Rhizobium* (Hardy, 1980), sin embargo, la respuesta del frijol a la inoculación con su simbiote *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* ha sido muy variable debido principalmente a la presencia de cepas nativas poco efectivas y altamente competitivas, por lo que se prefiere el uso de fertilizante nitrogenado (Graham, 1981; Rosas y Bliss 1986a; 1986b). Esto crea la necesidad de buscar cepas capaces de establecerse bajo las condiciones utilizadas por el agricultor. Algunos trabajos realizados en años anteriores en Costa Rica (Acuña y Cordero, 1989; CIAT, 1990) han demostrado que la inoculación con *Rhizobium* permite un mejor desarrollo de la planta de frijol y un incremento en los rendimientos, especialmente cuando se utilizó la variedad Negro Huasteco que responde favorablemente a la inoculación.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de una variedad comercial de frijol a la inoculación con tres cepas de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* bajo condiciones de mínima labranza.

MATERIALES Y METODOS

Los experimentos se realizaron en fincas de agricultores en Monterrey de San Carlos, San Pedro de Pérez Zeledón y Las Brisas de Pérez Zeledón. Las características químicas de los suelos se observan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Características químicas de los suelos estudiados.

	Monterrey	Las Brisas	San Pedro
M.O. (%)	5,6	6,1	8,4
pH (H ₂ O)	5,2	5,1	5,3
P (mg/kg)	9,0	23	2,3
Ca (cmol (+)/kg)	4,3	3,9	2,8
Mg (cmol (+)/kg)	1,4	0,4	0,3
K (cmol (+)/kg)	0,3	0,3	0,3
Ac.(cmol (+)/kg) *	0,7	0,8	0,6
Fe (mg/kg)	122	420	230
Cu (mg/kg)	18	9	12
Zn (mg/kg)	8	7	24
Mn (mg/kg)	82	112	78

* Acidez intercambiable

Se utilizó el cultivar Negro Huasteco con hábito de crecimiento II, y las cepas de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* CR 402 (127 K12b), CR 409 (CIAT 166) y CR 436b.

Se prepararon suspensiones de cada cepa en caldo levadura manitol, a partir de cultivos en agar levadura manitol (Vincent, 1970) con 2 días de crecimiento y se mezclaron en una relación 1:4 con turba de Medio Queso, Los Chiles, Costa Rica (León *et al.*, 1986).

La turba se trató previamente con vapor a 100°C por 1 h durante 3 días consecutivos y se neutralizó con carbonato de calcio aplicando 70 g/kg de turba (León *et al.*, 1986); el inoculante se aplicó al suelo a razón de 1g/m de surco (CIAT, 1988).

Además, se incluyó un tratamiento sin inocular (N-) y otro alto en N y sin inocular (N+) aplicando 69,9 kg de N/ha en forma de urea al momento de la siembra y 2 semanas después.

Como fertilización base, se aplicó en todos los casos 55,5 kg de P/ha en forma de triple superfosfato, 15,4 kg de K/ha como cloruro de potasio, ambos al momento de la siembra, y fertilización foliar con Fetrilón-combi a razón de 400 g/ha una vez desarrollado el cultivo.

Para el control de plagas se aplicó Citrolane 2G (18 kg/ha), y para las malezas se utilizó Prowl 330 (1,3 L/ha), Dinitro (0,9 L/ha) y Gramoxone (1,3 L/ha).

El experimento siguió un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones. Las parcelas experimentales fueron de 6 surcos de 5 m de largo separados 50 cm entre sí. La distancia entre tratamientos y bloques fue de 1 y 2 m, respectivamente.

La densidad de siembra fue de 12 semillas/m. Se evaluaron el peso seco de los nódulos y de la parte aérea (g/6 plantas) en las etapas de desarrollo V4 (tercera hoja trifoliada) y R6 (floración). A la cosecha se evaluó el rendimiento (g/parcela útil de 10m²).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la localidad de Monterrey no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos evaluados (Cuadro 2), sin embargo se observó en la etapa R6 una tendencia del tratamiento con alta dosis de N y del inoculado con la cepa CR 402, a presentar un mayor peso seco y un mejor rendimiento (Cuadro 3). El peso seco de los nódulos no presentó diferencias significativas

Cuadro 2. Efecto de la inoculación con cepas de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* sobre el peso seco de nódulos y de la parte aérea de plantas de frijol en 2 estados de desarrollo, sembradas en 3 localidades de Costa Rica.

Localidad	Tratamiento	V4		R6	
		Nódulos (g/6 pl)	Parte aérea (g/6 pl)	Nódulos (g/6 pl)	Parte aérea (g/6 pl)
Monterrey, San Carlos	CR 402	0,0228	5,31	0,5110	136,06
	CR 409	0,0565	5,64	0,4688	99,38
	CR 436b	0,4500	6,75	0,3536	95,59
	N-	0,3800	7,56	0,8869	102,46
	N+	0,0137	6,77	0,5883	106,73
Las Brisas, Pérez Zeledón	CR 402	0,1074	3,71 b	0,1970 d	21,18
	CR 409	0,1562	3,94 b	0,4524 a	18,92
	CR 436b	0,1210	3,57 b	0,4145 b	20,36
	N-	0,1290	3,93 b	0,3303 c	18,91
	N+	0,0830	6,20 a	0,1942 d	28,99
San Pedro, Pérez Zeledón	CR 402	0,1210 bc	3,45	0,2554 ab	21,18
	CR 409	0,1858 b	3,92	0,1566 b	19,38
	CR 436b	0,3306 a	3,80	0,4171 a	20,73
	N-	0,1896 b	5,49	0,1276 b	28,08
	N+	0,0632 c	3,77	0,1303 b	15,54

V4 = tercera hoja trifoliada; R6 = floración

N- = sin inocular y sin N; N+ = sin inocular y con 69,9 kg N/ha.

Letras diferentes implican diferencias significativas según la prueba de Duncan (5%).

entre tratamientos, siendo mayor en el tratamiento sin inocular, lo que indica la presencia de cepas nativas con alta capacidad de infección (Cuadro 3).

En Las Brisas de Pérez Zeledón, el tratamiento alto en N presentó en la etapa de desarrollo V4 un peso seco significativamente mayor que el de los tratamientos restantes. En la etapa R6,

aunque sin significancia estadística, la tendencia fue igual (Cuadro 2). Con respecto a la nodulación no se observó diferencias significativas en la etapa de desarrollo V4, mientras que en la etapa R6 el peso seco de los nódulos fue significativamente mayor cuando se inoculó con la cepa CR 409. En esta localidad se obtuvo un rendimiento (Cuadro 3), significativamente más alto cuando se fertilizó con N, y en los tratamientos inoculados con las cepas CR 409 y CR 436b con respecto a los tratamientos no inoculado e inoculado con la cepa CR 402 (Figura 1). Esto demuestra que ambas cepas fijan suficiente N, comparable con la dosis aplicada en el tratamiento fertilizado. Si esto se traduce a términos económicos, para tener rendimientos semejantes se puede aplicar fertilizante nitrogenado con un alto costo o se puede inocular con una cepa específica a un costo 10 veces menor. En esta localidad también se observó que el tratamiento sin inocular N- presentó un bajo rendimiento, lo que indica que las cepas nativas no son efectivas, al igual que la cepa CR 402.

En San Pedro de Pérez Zeledón no se observaron diferencias significativas entre tratamientos

Cuadro 3. Efecto de la inoculación con cepas de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* sobre el rendimiento de *Phaseolus vulgaris* var. Negro Huasteco en 3 localidades de Costa Rica.

Tratamiento	Monterrey (g/10m ²)	Las Brisas (g/10m ²)	San Pedro (g/10m ²)
CR 402	1425	595 c	1113 a
CR 409	1238	954 ab	803 ab
CR 436b	1388	933 ab	1385 a
N-	1225	646 c	1209 a
N+	1812	1291 a	547 b

N- = sin inocular y sin N; N+ = sin inocular y con 69,9 kg N/ha.

Letras diferentes implican diferencias significativas según la prueba Duncan (5%).

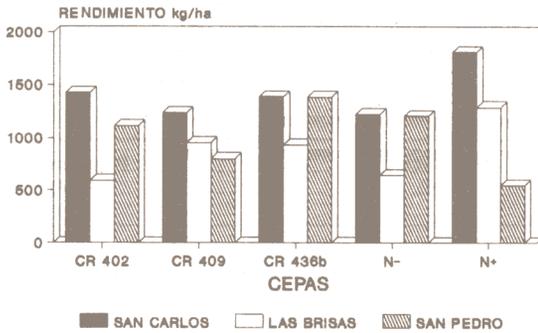


Fig. 1. Efecto de la inoculación de *Phaseolus vulgaris* var. Negro Huasteco sobre el rendimiento de frijol por localidad.

con respecto al peso seco de las plantas. La cepa CR 436b presentó un peso seco de nódulos significativamente mayor en las etapas V4 y R6, comparado con la mayoría de los tratamientos (Cuadro 2). En esta localidad el tratamiento alto en N presentó un rendimiento significativamente menor que los tratamientos inoculados y no inoculados, debido probablemente a efecto de plagas y a la competencia con malezas por la disponibilidad del N aplicado, situación que no ocurrió cuando se estableció la simbiosis.

Se observó mayor peso seco y rendimiento en el experimento sembrado en San Carlos en comparación con los de Pérez Zeledón (Cuadros 2 y 3, Figura 1). Esto se debió a problemas de sequía que afectaron el desarrollo de las plantas en esta zona.

En síntesis, en 2 de las 3 localidades, Monterrey de San Carlos y San Pedro de Pérez Zeledón, no se obtuvo respuesta significativa a la inoculación con las cepas evaluadas. Al parecer, la población nativa fue capaz de establecer una simbiosis efectiva y suficiente pues el comportamiento del tratamiento sin N y sin inocular, resultó aceptable.

El cultivo del frijol considerado como tradicional se caracteriza por un estancamiento tecnológico, con la adopción de nuevas variedades y el uso de inoculantes por parte de los agricultores, se dan los primeros pasos para superar esta situación.

La importancia de evaluar la simbiosis bajo las condiciones utilizadas por el agricultor, o sea, con prácticas de mínima labranza, radica en que el manejo que se le da al cultivo influye en el comportamiento de las cepas nativas e inoculadas.

La comprensión de los factores ecológicos que afectan la población nativa es indispensable para hacer posible la introducción y establecimiento de los inoculantes (Woomer *et al.*, 1988). Además, con esta práctica el terreno no se ve sometido a un manejo excesivo con el uso de maquinaria, no se ve expuesto a problemas de erosión y se reducen las labores de fertilización.

Este tipo de investigación es muy importante ya que trata de buscar alternativas que permitan incrementar los rendimientos de un cultivo tan descuidado tecnológicamente como el frijol.

La obtención de cepas efectivas que permitan al agricultor reducir los costos sólo se puede realizar tomando en cuenta los factores de manejo del cultivo. Es conveniente además la evaluación de estas cepas en un mayor número de localidades para así determinar su potencial como inoculante.

RESUMEN

Se evaluó la respuesta a la inoculación de *Phaseolus vulgaris* var. Negro Huasteco con tres cepas de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* (CR 402, CR 409, CR 436b) bajo condiciones de mínima labranza en las localidades de Monterrey de San Carlos, San Pedro de Pérez Zeledón y Las Brisas de Pérez Zeledón. Se prepararon inoculantes a base de turba con las cepas a evaluar y éstas se aplicaron al suelo al momento de la siembra la cual se realizó a espeque. Además de los tratamientos con las diferentes cepas se empleó un tratamiento testigo sin inocular (-N) y otro sin inocular y con una fertilización nitrogenada alta (+N). Se midió el peso seco de los nódulos y el peso seco de la parte aérea en las etapas de desarrollo V4 y R6, así como el rendimiento de la cosecha.

En la localidad de Monterrey no se observó respuesta significativa a la inoculación con las cepas evaluadas, mientras que en Las Brisas se obtuvo respuesta significativa en el peso seco foliar en la etapa V4, en donde el mejor tratamiento fue el fertilizado con N y en el peso seco de nódulos en la etapa R6 en donde el mejor tratamiento fue el inoculado con la cepa CR 409. El rendimiento se vio favorecido con la fertilización nitrogenada y la inoculación con las cepas CR 436b y CR 409. En la localidad de San Pedro se obtuvo mayor peso de nódulos en las etapas V4, R6 y con el tratamiento inoculado con la cepa CR

436b, mientras que los mayores rendimientos se presentaron con la inoculación de las diferentes cepas y con el testigo -N. Aquí el tratamiento fertilizado con N presentó el menor rendimiento debido probablemente a competencia con malezas.

En las localidades de Monterrey y San Pedro el tratamiento no inoculado y sin fertilización nitrogenada presentó buenos rendimientos lo que podría indicar la presencia de cepas nativas efectivas.

LITERATURA CITADA

- ACUÑA, O.; CORDERO, A. 1989. Efecto de diferentes dosis de molibdeno, fósforo y calcio sobre la nodulación y crecimiento del frijol en un ultisol de Puriscal. *Agronomía Costarricense* 13(2):193-196.
- DEBOUCK, D.; HIDALGO, R. 1985. Morfología de la planta de frijol común. *In* Frijol: Investigación y producción. Ed. por M. López, F. Fernández y A. Schoonhoven. Cali, Colombia, CIAT-PNUD. p. 7-42.
- CIAT. 1988. Simbiosis leguminosa-Rizobio: manual de métodos. Cali, CIAT. 178 p.
- CIAT-PNUD. 1990. La simbiosis Leguminosa-Rizobio: actas de un taller sobre la evaluación, selección y manejo agronómico. Ed. por J. Kipe-Nolt y R. Bradley. Cali, Colombia, CIAT-PNUD.
- GRAHAM, P. 1981. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.: a review. *Field Crops Research* 4:93-112.
- HARDY, R. 1980. The global carbon and nitrogen economy. *In* Nitrogen fixation. Free living systems and chemical models. Ed. by W. Newton and W. Ohrme. Baltimore, University, Park Press VI. p. 73-78.
- LEON, E.; ACUÑA, O.; RAMIREZ, C. 1986. Evaluación de la reproducción y sobrevivencia de bacterias del género *Rhizobium* en suelo de turba de la zona de Medio Queso, Los Chiles, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 10(1/2):33-41.
- ROSAS, J.; BLISS, F. 1986a. Mejoramiento de la capacidad de fijación de nitrógeno en frijol común. *Ceiba* 27:95-104.
- ROSAS, J.; BLISS, F. 1986b. Utilización del potencial de fijación de nitrógeno del frijol común en Centro América. *Ceiba* 27:105-115.
- VINCENT, J. 1970. A manual for the practical study of the root nodule bacteria. England, Oxford, IBP Handbook. 164 p.
- WOOMER, P.; SINGLETON, P.; BOHLOOL, B. 1988. Ecological indicators of native rhizobia in tropical soils. *Appl. Env. Microbiol.* 54(5):1112-1116.