

EFFECTO DE LA VARIEDAD DE FRIJOL Y LA CEPA DE *Rhizobium* SOBRE LA RESPUESTA A LA INOCULACIÓN EN TRES LOCALIDADES DE COSTA RICA^{1*}

Oscar Acuña^{2/}**
Leida Castro**

ABSTRACT

Effect of the bean variety and *Rhizobium* strain on response to the inoculation at three sites in Costa Rica. To evaluate the response of a recently introduced bean line, and one of traditional use, to the inoculation with 3 *Rhizobium* strains in 3 sites of Costa Rica, varieties DOR 364 (new) and Negro Huasteco (used by the farmers) were planted at Santa Rosa de Pocosol and Upala, and varieties DOR 364 and Brunca at Pérez Zeledón. The strains used were CR 477, Kim 5 and CIAT 613 in Pérez Zeledón and CIAT 151, CIAT 613 and Kim 5 at the two others localities. Check treatments were 30 kg N/ha (-N) and 120 kg N/ha (+N). The experimental design was randomized subdivided blocks, where the large block was variety and the small blocks were inoculation and fertilizer treatments. Four replicates were used. At Pérez Zeledón, with both varieties, plants inoculated with CR 477 showed a higher dry weight of the aerial part than check +N. This shows that in these conditions the strain CR 477 improved the above-ground development of beans. It was impossible to evaluate yield at this site due to a heavy attack of web blight. At Santa Rosa de Pocosol the greatest foliar dry weight was obtained with CIAT 151 in DOR 364, higher than the +N check; this treatment gave similar yield as +N. However, when this strain was used with the Negro Huasteco, foliar and grain yields were smaller than in checks -N and +N. Plants of both varieties inoculated with the 2 others strains (Kim 5 and CIAT 613) showed lower foliar and grain yields than the checks. At Upala the plants inoculated with the 3 strains showed for both varieties lower foliar weight than both checks with N. It is important to indicate that the lower N application (30 kg N/ha) produced a response at growth stage R8, evaluated as foliar dry weight, similar to the high N dose (120 kg N/ha) for both varieties, but only Negro Huasteco at Santa Rosa maintained this response in grain yield; in all other cases the +N treatment was higher than -N in grain yield.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los pobladores de Centroamérica tienen en el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) una fuente importante de proteínas y calorías que incorporan en su dieta. El frijol se cultiva principalmente por pequeños agricultores en suelos de baja fertilidad y con poca aplicación de

1/ Recibido para publicación el 9 mayo de 1995.

2/ Autor para correspondencia.

* Financiado parcialmente por el PRIAG (Programa Regional de Reforzamiento a la Investigación Agronómica sobre los Granos en Centroamérica).

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

tecnología por lo que se obtienen rendimientos promedio sumamente bajos (Rosas y Bliss, 1986a, 1986b). Con la adopción por parte de los agricultores de nuevas variedades y el uso de inoculantes a base de cepas de *Rhizobium* efectivas y competitivas, se dar-n las bases para superar esta situación.

La cantidad de N fijado está determinada por la compatibilidad encontrada entre el hospedero y el microorganismo y su interacción con el ambiente (Singleton *et al.*, 1985), de allí que es muy importante la obtención de cepas eficientes en las variedades comerciales utilizadas y capaces de establecerse bajo condiciones ambientales adversas. Muchos estudios sobre este tema no han tenido buenos resultados debido a que no se consideró algunos de los factores antes mencionados.

En varias investigaciones (Graham, 1981; Westermann *et al.*, 1981; Rennie y Kemp, 1983a; 1983b; Rosas y Bliss, 1986a, 1986b) se demostró que la capacidad del frijol para fijar N es comparable con la de otras leguminosas de grano y que la diferencia en la respuesta a la inoculación observada en muchos casos podría atribuirse al genotipo del hospedero y al uso de cepas introducidas no adaptadas a las condiciones climáticas y de suelo locales. Quintero *et al.* (1983) realizaron estudios de selección local de cepas a nivel de invernadero; las cepas más efectivas fueron evaluadas en el campo donde algunas presentaron rendimientos tan altos como los obtenidos con la fertilización nitrogenada. En estudios realizados a nivel de campo se encontró que la efectividad de la simbiosis varió con el cultivar de frijol y con la cepa de *Rhizobium* utilizada (Rennie y Kemp, 1983a, 1983b). Paulini *et al.* (1969) evaluaron 10 variedades de frijol negro de las cuales 3 presentaron rendimientos satisfactorios, además observaron diferencias significativas en cuanto a nodulación lo que muestra la influencia de la variedad de frijol sobre la eficiencia de las cepas. Rosas y Bliss (1986a) encontraron que algunas cepas llegaron a fijar hasta 100 kg/ha de N cuando se inocularon en variedades que responden favorablemente a la inoculación, en contraste con valores de alrededor de 40 kg/ha obtenidos anteriormente. Pacovsky *et al.* (1984) también observaron diferencias en los parámetros medidos debidos a las combinaciones cepa-cultivar. Ortega y Echegaray (1985) encontraron diferencias en la efectividad de algunas cepas de *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli* evaluadas en el campo. Saito (1982) determinó en

2 tipos de suelos la efectividad de 10 cepas seleccionadas; en uno de los suelos encontró que aunque no hubo diferencias significativas debidas a la inoculación, los tratamientos inoculados con 2 de las cepas presentaron incrementos de 43% y 48% en el rendimiento del cultivo; en el segundo suelo obtuvo un incremento significativo del 47% en el rendimiento, al utilizar la cepa CIAT 903. Cabe mencionar que en los programas de mejoramiento no se selecciona la capacidad de fijación. Las diferencias genotípicas de los caracteres específicos de la fijación de N son usualmente enmascarados por características de la planta que pueden afectarlos directa o indirectamente. Generalmente las plantas que presentan mayor capacidad de fijación son las que presentan floración y madurez tardías, gran follaje, y poseen un hábito de crecimiento indeterminado (Graham *et al.*, 1977; Mc Ferson, 1983; Rosas y Bliss, 1986a,b).

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la inoculación con 3 cepas de *Rhizobium* que han demostrado previamente ser eficientes en el proceso de FBN, sobre el desarrollo y rendimiento de una línea de nueva introducción y una variedad de uso tradicional de frijol en 3 localidades de Costa Rica dedicadas a la producción frijolera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y tratamientos

En las localidades de Santa Rosa de Pocosol, Upala y San Isidro de El General (escogidas por su importancia en la producción de frijol) se sembraron experimentos en los que se evaluaron los siguientes tratamientos:

- 1- Inoculación con las cepas CIAT 151 o CR-477.
- 2- Inoculación con la cepa CIAT 613.
- 3- Inoculación con la cepa KIM 5.
- 4- Sin inoculación con dosis baja N (30 kg/ha) aplicada a la siembra (N-).
- 5- Sin inoculación con dosis alta de N (120 kg/ha) en 2 aplicaciones a la siembra y 20 días después de la siembra (N+).

Se realizó a la siembra a todos los tratamientos por igual una fertilización fosfórica de 90 kg/ha de P_2O_5 y 70 kg/ha de K_2O , que es la fertilización que generalmente utilizan los agricultores en el cultivo del frijol.

Se utilizaron las siguientes variedades:

1. Variedad de uso tradicional (Brunca - Pérez Zeledón, Negro Huasteco - Santa Rosa y Upala).
2. Línea de nueva introducción (DOR 364).

Unidad experimental y diseño

Se establecieron 6 surcos de 4,0 m de largo x 0,5 m de ancho = (20 m²), de los cuales evaluó una parcela útil: 4 surcos centrales menos 0,5 m de borde a cada extremo (6 m²).

Se utilizó un diseño de parcelas divididas con 4 repeticiones, donde la variedad constituye la parcela principal y la fuente de N la sub-parcela.

VARIABLES EVALUADAS

1. Peso seco de la parte aérea en R8.
2. Peso seco de nódulos en R8.
3. Rendimiento de grano (producción).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Localidad de Pérez Zeledón

En la localidad de Pérez Zeledón se utilizaron las variedades Brunca (utilizada comúnmente por el agricultor) y se introdujo la línea DOR 364 para observar su comportamiento al ser inoculada con 3 cepas de *Rhizobium* previamente evaluadas en otros ensayos. Se observó que en la etapa de crecimiento R7 la cepa CR 477 provocó los mayo-

res pesos secos foliares en ambas variedades (Figura 1), siendo ligeramente mayor para la variedad Brunca, pero superando ambas incluso al tratamiento fertilizado con 120 kg/ha de N.

Este resultado concuerda con el observado por Acuña y Uribe (1996), en la localidad de Puriscal y con la variedad Talamanca y la variedad Brunca en San Carlos, donde esta misma cepa logró superar al tratamiento N+ cuando se evaluó la misma variable así como el rendimiento. Las otras cepas tuvieron un comportamiento similar al testigo con bajo N en cuanto a la variable peso seco foliar. En la misma etapa de crecimiento (Figura 1), se determinó que la variedad DOR 364 presentó la mayor nodulación con la cepa CR 477, seguida de la KIM 5.

La inoculación con esta última cepa en la variedad Brunca permitió obtener el mayor peso de nódulos (Figura 1), sin embargo para esta variedad no parece existir correlación positiva entre el peso seco de los nódulos y el peso seco foliar, correlación que sí se presenta para la variedad DOR 364 y la cepa CR-477. En esta etapa también se observó que el menor peso seco de nódulos se obtuvo con la fertilización con 120 kg/ha de N, dosis que parece haber inhibido la nodulación, resultado ampliamente conocido y reportado en otras investigaciones. Debido a que el ensayo, después del llenado de vainas, fue afectado en su totalidad por la telaraña no se pudo llevar hasta la cosecha, de allí que no se presenta en el presente trabajo el resultado de rendimiento. Sin embargo, los resultados obtenidos son muy promisorios en cuanto al éxito de la tecnología de inoculación para ambas variedades en esta zona.

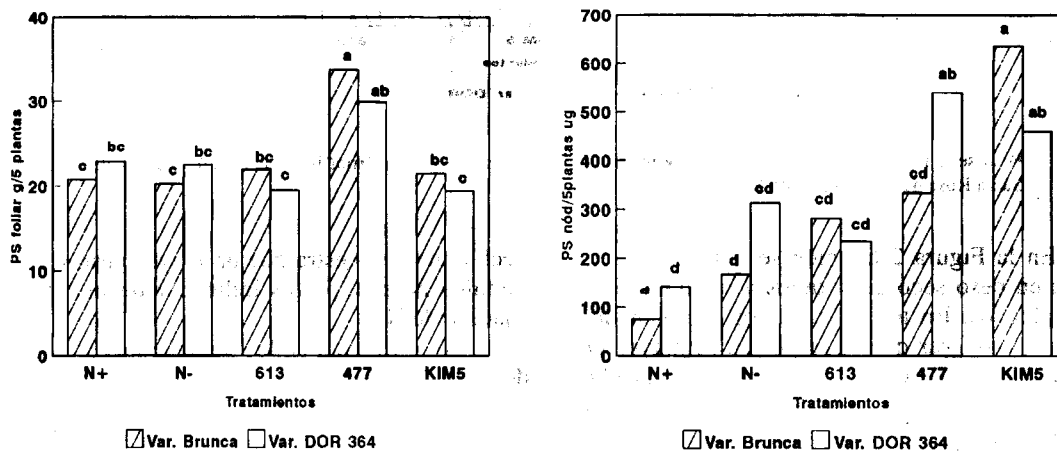


Fig. 1. Peso seco foliar y peso seco de nódulos de 2 variedades de frijol inoculadas con 3 cepas de *Rhizobium*. Pérez Zeledón, Costa Rica.

Localidad de Santa Rosa

En la Figura 2 se puede observar el efecto de los tratamientos en la etapa R8 sobre el peso seco foliar de las 2 variedades de frijol utilizadas en esta zona. En este caso se puede apreciar que la variedad mejorada DOR 364 mantuvo para todos los tratamientos la tendencia hacia una mayor producción de biomasa foliar. En cuanto a la inoculación con las 3 cepas, la CIAT 151 logró aumentar el peso se-

co foliar de una forma significativa cuando se utilizó la variedad mejorada DOR 364, no así cuando se inoculó a la variedad Negro Huasteco. Las otras 2 cepas fueron incapaces de lograr incrementar el peso seco foliar de las 2 variedades, incluso no fueron capaces de igualar al tratamiento con la dosis baja de N, lo que indica que en esta zona hay una respuesta del frijol a la fertilización nitrogenada y que las cepas KIM 5 y 613 son ineficientes en suplir este N en las condiciones evaluadas.

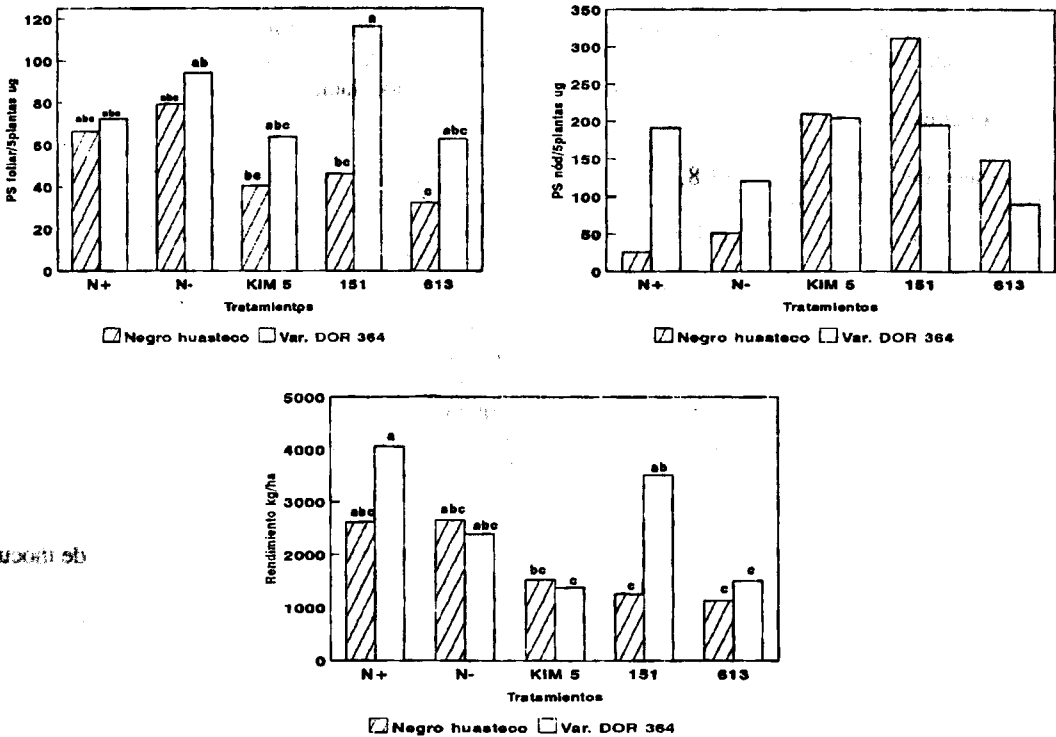


Fig. 2. Peso seco foliar, peso seco de nódulos y rendimiento de 2 variedades de frijol inoculadas con 3 cepas de *Rhizobium*. Santa Rosa de Pocosal, Costa Rica.

En la Figura 2 también se muestra la respuesta en peso seco de nódulos a los tratamientos evaluados. En los tratamientos nitrogenados se puede observar que la respuesta es mayor en la variedad DOR 364. El tratamiento que produjo el mayor peso seco de nódulos fue la cepa 151 con la variedad Negro Huasteco, lo que se contraponen a los resultados obtenidos con el peso seco foliar, los cuales fueron mayores con la misma cepa pero con la variedad DOR 364,

hecho que demuestra que un mayor peso seco de nódulos no siempre es indicador de una mayor fijación de N.

Por otro lado, en los tratamientos nitrogenados la variedad Negro Huasteco no respondió a la aplicación de dosis altas de N presentando un rendimiento similar con ambas dosis (Figura 2). Por el contrario la variedad DOR 364 aumentó la producción en aproximadamente 40% al aumentar la fertilización nitrogenada de 30 a 120 kg/ha, lo que

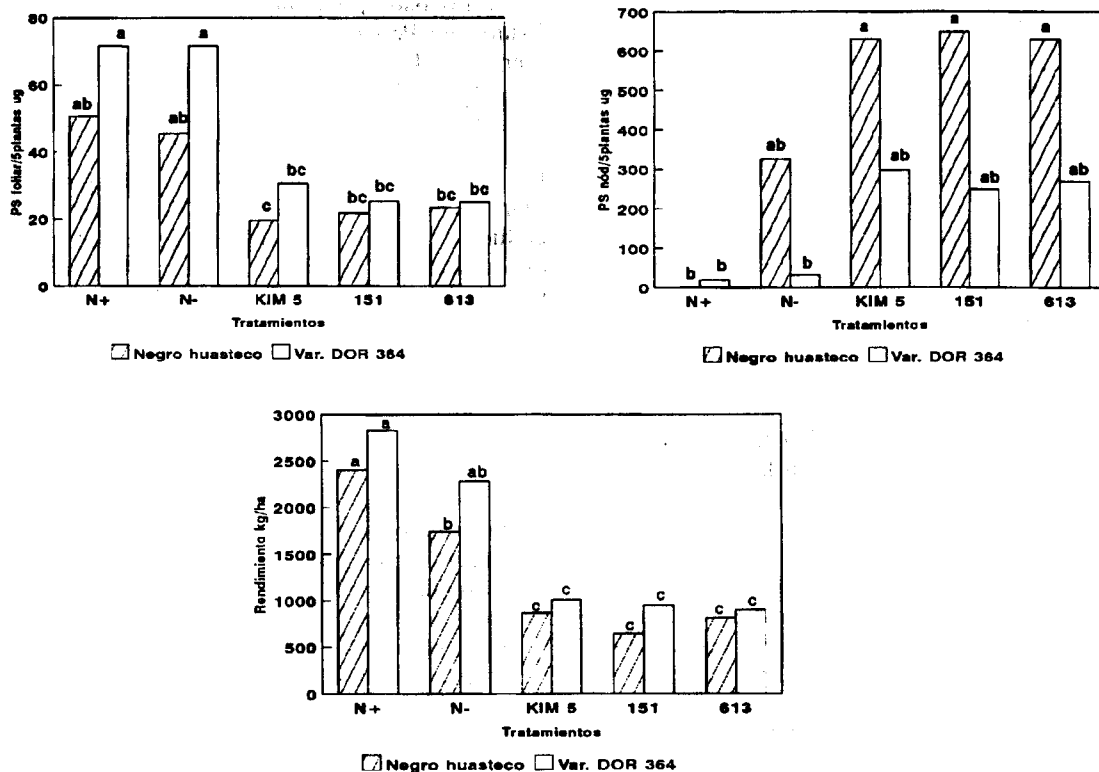


Fig. 3. Peso seco foliar, peso seco de nódulos y rendimiento de 2 variedades de frijol inoculadas con 3 cepas de *Rhizobium*. Upala, Costa Rica.

indica que la variedad Negro Huasteco por sí misma es incapaz de responder a la fertilización nitrogenada bajo las condiciones evaluadas en la zona de Santa Rosa.

Es probable también que por esta misma razón no existe respuesta a la inoculación con ninguna de las cepas cuando se evaluaron las variables peso seco foliar y rendimiento para la variedad Negro Huasteco en esta localidad. Al evaluar el rendimiento (Figura 2) queda demostrado que las cepas KIM 5 y 613 en combinación con las variedades utilizadas fueron incapaces de igualar al tratamiento con la dosis baja de N, por lo tanto ninguna de las 2 combinaciones bajo las condiciones evaluadas es capaz de suministrar el N necesario al sistema para alcanzar un rendimiento similar a los tratamientos con aplicación de N. La cepa 151 con la variedad DOR casi igualó en producción al tratamiento con la dosis alta de N, lo que la convierte en una cepa altamente eficiente en la FBN

(Fijación biológica de N) bajo las condiciones presentadas y con la línea DOR-364. Sin embargo esta misma cepa con la variedad Negro Huasteco fue incapaz incluso de igualar al tratamiento con bajo N.

Localidad de Upala

Para ambos tratamientos con aplicación de N en esta localidad (Figura 3), la variedad DOR-364 superó significativamente a la Negro Huasteco, lo que pone en evidencia la mayor productividad de la línea de nueva introducción DOR-364. En esta localidad ninguna de las 3 cepas evaluadas fue capaz de igualar al testigo con bajo N.

Al observar la Figura 3 se puede concluir que el hecho de que ninguna de las cepas lograra aumentar el peso seco foliar no se debe a que la inoculación no haya sido eficiente, ya que por lo menos para la variedad Negro Huasteco la variable nodulación fue significativamente mayor en

los tratamientos inoculados que en aquellos no inoculados, demostrando que las cepas fueron capaces de infectar la planta (cepas competitivas), sin embargo estas no fueron efectivas en el proceso de fijación bajo las condiciones evaluadas, ya sea por que las cepas en sí mismas fueron poco efectivas o porque la combinación con las variedades utilizadas es ineficiente. En este sentido, varios autores indican (Rennie y Kemp 1983a; 1983b; Rosas y Bliss, 1986a; 1986b) que la inoculación no aumenta por sí misma la fijación de N, ya que la planta hospedera puede constituir un organismo limitante en la simbiosis.

El rendimiento (Figura 3) para ambas de variedades fue mayor cuando se aplicó 120 kg/ha de N, seguido por las dosis de 30 kg/ha, y por último los tratamientos inoculados con las 3 cepas. Sin embargo, cabe destacar que, el rendimiento obtenido con estos 3 tratamientos donde la inoculación no tuvo efecto, está alrededor del promedio nacional que es de 700 kg/ha, demostrando con estos datos que sí es posible aumentar el rendimiento en la producción frijolera utilizando un paquete tecnológico adecuado, el cual puede incluir una cepa de *Rhizobium* efectiva para suplir los requerimientos nitrogenados del cultivo, en lugar del fertilizante químico.

Las variables evaluadas permitieron mostrar que la inoculación con la cepa de *Rhizobium* adecuada (en este caso CIAT 151) y bajo las condiciones adecuadas (var DOR 364, localidad de Santa Rosa) o la cepa CR-477 en la localidad de Pérez Zeledón con la variedad DOR-364 o Brunca, puede favorecer de forma significativa el crecimiento y rendimiento del cultivo del frijol.

Además, los datos obtenidos demuestran la especificidad de las cepas de *Rhizobium* y por lo tanto la necesidad de realizar investigación para cada caso en particular, buscando las combinaciones apropiadas para cada zona y cada cultivar. Por otro lado es importante si se usan inoculantes a nivel comercial utilizar mezclas de cepas para aumentar la probabilidad de respuestas favorables.

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la respuesta de una línea reciente de frijol y una variedad de uso tradicional a la inoculación con 3 cepas de *Rhizobium* en 3 localidades de Costa Rica, se utilizaron las variedades DOR 364 (línea nueva) y Negro Huasteco (utilizada por el agricultor) en Santa Ro-

sa de Pocosal y Upala, así como DOR 364 y Brunca en Pérez Zeledón. Las cepas evaluadas fueron CR 477, KIM 5 y CIAT 613 en Pérez Zeledón y CIAT 151, CIAT 613 y KIM 5 en las otras dos localidades. Además se utilizaron 2 tratamientos testigo: 30 kg N/ha (N-) y 120 kg N/ha (N+). El diseño experimental fue bloques completos al azar con parcelas divididas, donde la parcela grande fue la variedad y las subparcelas los tratamientos de inoculación y fertilización, con 4 repeticiones. En Pérez Zeledón, en ambas variedades, las plantas inoculadas con CR 477 mostraron un mayor peso seco de la parte aérea, superando al testigo N+. Esto indica que bajo las condiciones del ensayo, la cepa CR 477 logró aumentar el desarrollo foliar del cultivo. Debido a un serio ataque de Telaraña fue imposible evaluar el rendimiento en esta localidad. En Santa Rosa de Pocosal se obtuvo el mayor peso seco foliar con CIAT 151 en DOR 364 superando incluso al testigo N+; el rendimiento fue similar al N+. Sin embargo, al ser utilizada esta cepa con Negro Huasteco el peso seco foliar y de grano obtenido fue menor al testigo N+ y N-. Las plantas inoculadas con las 2 cepas restantes (KIM 5 y 613) para ambas variedades presentaron también pesos secos foliares y de grano menores al testigo N+ y N-. En Upala las plantas inoculadas con las 3 cepas utilizadas presentaron para ambas variedades pesos secos foliares menores a ambos testigos con N. Es importante destacar que la dosis más baja de N (30 kg/ha) produjo una respuesta, evaluada en peso seco foliar en la etapa de crecimiento R8 (llenado de vainas) similar a la dosis alta (120 kg/ha) para ambas variedades. Sin embargo, al evaluar el rendimiento, solo Negro Huasteco en Santa Rosa mantuvo esta respuesta, mientras que en los otros casos el tratamiento N+ superó al N- en mayor o menor grado.

LITERATURA CITADA

- ACUÑA, O; URIBE, L. 1996. Inoculación con 3 cepas seleccionadas de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*. *Agronomía Mesoamericana* 7(1):35-40.
- GRAHAM, P.; ROSAS, J. 1979. Phosphorus and symbiotic nitrogen fixation in common bean. *Agronomy Journal* 71:925-926.
- GRAHAM, P.; PARKER, C.; HALLIDAY, J.; 1977. Exploiting the legume-*Rhizobium* symbiosis in tropical agriculture. In J. Vincent (ed) *Univ. Hawaii Coll. Trop. Agric. Misc. Publ.* 145:313-334.

- GRAHAM, P. 1981. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. L.: a review. *Field Crops Research* 4:93-112.
- MC FERSON, J. 1983. Genetic and breeding studies of nitrogen fixation in common bean, *Phaseolus vulgaris*. Ph. D. Thesis, Univ. of Wisconsin, Madison. 174 p.
- ORTEGA, J.; ECHEGARAY, A. 1985. Preselección de seis cepas de *Rhizobium phaseoli* en cuatro variedades de frijol de importancia para el valle de México. Resúmenes Tercera Reunión sobre Fijación Biológica de Nitrógeno. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. México. D.F. p. 1.
- PACOVSKY, R.; BAYNE, H.; BETHLENFALVAY, G. 1984. Symbiotic interactions between strains of *Rhizobium phaseoli* and cultivars of *Phaseolus vulgaris*. *Crop Science* 24(1):101-105.
- PAULINI, A.; PESSANHA, G.; GROSZMAN, A. 1969. Competição de variedades de feijão preto (*Phaseolus vulgaris*) na época "da seca" na Baixada Fluminense. *Agromónia* 27(3/4):61-70.
- QUINTERO, M; GONZÁLEZ, S.; CALZADA, C.; CASTILLO, M.; PEÑA, M. 1983. Efecto de la inoculación de frijol en zonas de temporal de Durango. *Turrialba* 33(3):303-309.
- RENNIE, R.; KEMP, G. 1983a. N₂-fixation in field beans quantified by 15N isotope dilution. 1. Effect of strains of *Rhizobium phaseoli*. *Agronomy Journal* 75:640-644.
- RENNIE, R.; KEMP, G. 1983b. N₂-fixation in field beans quantified by 15N isotope dilution. 2. Effect of cultivars of beans. *Agronomy Journal* 75:645-649.
- 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.
- SAITO, S. 1982. Avaliação em campo da capacidade de fixação simbiótica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 17(7):999-1006.
- SINGLETON, P.; MAGID, H.; TAVARES, J. 1985. Effect of phosphorous on the effectiveness of strains of *Rhizobium japonicum*. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 49:613-616.
- WESTERMAN, D.; KLEINKOPF, G.; PORTER, L.; LEGGETT, G. 1981. Nitrogen sources for bean seed production. *Agronomy J.* 73:661-664.