

## EFFECTO DE LA INOCULACION CON *Glomus manihotis* Y DE LA FERTILIZACION CON DOS FUENTES DE FOSFORO SOBRE EL RENDIMIENTO Y LA NODULACION RADICAL DE FRIJOL EN UN ULTISOL NO ESTERILIZADO, BAJO CONDICIONES DE CAMPO<sup>1</sup>

Eduardo A. Salas<sup>2</sup>/\*, Fabio A. Blanco\*

**Palabras clave:** inoculación, *Glomus manihotis*, nodulación radical, *Phaseolus vulgaris*, hongos micorrícicos arbusculares.

### RESUMEN

Se evaluó el efecto de la inoculación con la cepa C-1-1 de *Glomus manihotis* (Gm) y de la fertilización fosfórica en el frijol común *Phaseolus vulgaris* var. Talamanca, en un Ultisol no esterilizado bajo condiciones de campo. Los tratamientos consistieron en la combinación de 2 factores: a) tipo de fertilizante, con 3 niveles (triple superfosfato (TSF), roca fosfórica (RF) y testigo) y b) inoculación micorrícica, con 2 niveles (con o sin Gm). El inóculo consistió de suelo con esporas, micelio y raíces infectadas; se agregó en dosis de 20 g/golpe. El P se aplicó a razón de 45 kg/ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. El diseño experimental fue de parcelas divididas con 6 repeticiones. A las parcelas grandes les correspondió los tratamientos de fertilización y a las pequeñas los de inoculación. Las variables analizadas fueron: porcentaje de longitud de raíz colonizada por hongos micorrícicos arbusculares (MA), rendimiento de grano seco del cultivo y peso seco de nódulos de *Rhizobium* nativo. No hubo diferencias entre los tratamientos de inoculación ni entre los de fertilización para las variables: porcentaje de raíz colonizada y rendimiento del frijol. Sin embargo, con TSF, el peso seco de nódulos se incrementó (P≤0.05), en un 64.5% respecto al testigo y en 53% respecto a RF. Se propone que la principal

### ABSTRACT

**Effect of field inoculation with *Glomus manihotis* and of fertilization with two phosphorus sources on yield and root nodulation of common bean in a nonsterilized Ultisol.** Field inoculation of a nonsterilized Ultisol, with isolate C-1-1 of *Glomus manihotis* (Gm), and fertilization with phosphorus were evaluated on common bean *Phaseolus vulgaris* var Talamanca, under field conditions. The treatments tested were factorial combinations of two factors: a) type of fertilizer (control, rock phosphate (RP), and triple superphosphate (TSP)) and b) mycorrhizal inoculation (with/without Gm). Inoculum consisted of soil, spores and micelium as well as Gm infected roots; 20 g of inoculum per hole were placed. Fertilizer of either source was applied at a rate of 45 kg/ha of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. The test was arranged as a split plot experimental design with six replications. Type of fertilizer was assigned to whole plots and inoculation treatment to subplots. Root colonization by arbuscular mycorrhizal (AM) fungi (%), crop yield and dry weight of nodules produced in crop plants by native *Rhizobium* were measured. For the first two variables mentioned, there were no differences among inoculation treatments nor was there any effect of inoculation. The average dry weight of nodules was

1/ Recibido para publicación el 6 de junio de 1998.

2/ Autor para correspondencia.

\* Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad de Nacional, Apartado postal 86-3000 Heredia, Costa

Rica. El primer autor es beneficiario del Programa Financiero de Apoyo a Investigadores Científicos del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica.

causa de la ausencia de respuesta a la inoculación del hongo introducido, fue la alta efectividad de la población nativa de hongos MA.

increased 65% ( $P \leq 0.05$ ) over the control treatment, and 53% over RP ( $P \leq 0.05$ ), through the use of TSP. It is proposed that the lack of response to inoculation with Gm was due to the high effectiveness of the native AM fungi population.

## INTRODUCCION

El efecto benéfico de los hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA) para el crecimiento de la mayoría de especies de plantas es bien conocido. Entre otros beneficios, aumentan y estimulan la absorción de P mediante la extensa red de hifas que forman en el suelo. La adición de cantidades bajas de P es compatible e incluso complementaria con las MA en la estimulación del crecimiento de la planta (Mosse 1973, Hayman 1983, Sieverding 1991).

La importancia de las micorrizas en los suelos tropicales es obvia, debido a las deficiencias en P soluble que presentan los órdenes de suelos que abarcan la mayor área de suelo arable en los trópicos (Sánchez y Salinas 1981).

El manejo adecuado de las micorrizas puede ser de gran beneficio para solventar este problema, además de la utilización de una fuente de P compatible con la micorriza y con el tipo de suelo.

Se ha reconocido que la roca fosfórica (RF) es una buena fuente de P para las plantas en suelos tropicales ácidos, por ejemplo en los Ultisoles, en los cuales los resultados pueden ser similares a los de triple superfosfato (TSF) (Ramírez, 1980; Brenes y Bornemisza 1992). Por otro lado, se ha confirmado que la infección por micorrizas no es afectada por altos niveles de RF (Powell et al. 1980, Sieverding y Galvez 1988). Por ejemplo, el frijol común presentó una respuesta significativa cuando se inoculó con *Glomus manihotis* cepa C-1-1 y se fertilizó con RF en un suelo Ultisol fumigado con bromuro de metilo (Bermúdez et al. 1993).

Sin embargo, la esterilización del suelo no sería práctica ni rentable para los productores de granos básicos, por lo que debe investigarse mayormente el efecto de la inoculación en suelos no esterilizados.

Ante esta problemática se planteó esta investigación, con el objetivo de conocer la respuesta del frijol común a la inoculación con *Glomus manihotis* y a la fertilización con 2 fuentes de P (roca fosfórica y triple superfosfato) en un Ultisol no esterilizado, bajo condiciones de campo.

## MATERIALES Y METODOS

El experimento se llevó a cabo en Pejibaye de Pérez Zeledón, Costa Rica, en un suelo Ultisol con 24% de arena, 46% de arcilla y 30% de limo, pH 5.7, contenido de materia orgánica de 5.3%, y con K, 0.66; Ca, 14.45; Mg, 2.98; Acd. ext., 0.20 en Cmol<sup>(+)</sup>/L; P, 6; Fe, 71; Cu, 2; Zn, 6; Mn, 53 en mg/L.

El diseño experimental fue de parcelas divididas con 6 tratamientos y 6 repeticiones. Los tratamientos fueron:

1. Sin fertilización (Testigo) + inoculación (Gm) al suelo con la cepa C-1-1 de *Glomus manihotis* Howelwe, Sieverding y Schenck (Gm), originaria de Colombia.
2. Testigo + no inoculación (NI).
3. Fertilización con triple superfosfato (TSF) a la dosis de 45 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha + Gm.
4. TSF + NI.
5. Fertilización con roca fosfórica (RF) 30% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a la dosis de 45 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha + Gm.
6. RF + NI.

Los tratamientos de fertilización (Testigo, TSF, RF) se asignaron a las parcelas grandes, distribuidos en bloques completos al azar, y los de inoculación (Gm, NI) a las parcelas pequeñas. El tamaño de la parcela pequeña fue de 2.45 m x 6.75 m, y el área útil de 10.24 m<sup>2</sup>.

Se realizó una fertilización básica a todo el ensayo con 15 kg/ha de N y la misma cantidad de K, en forma de NH<sub>3</sub>NH<sub>4</sub> y KCl, respectivamente.

El inóculo de Gm consistió de suelo con micelio vivo, raíces infectadas y esporas. Se colocó 20 g por hoyo equivalente a 1242 kg/ha. La multiplicación previa del inóculo se había realizado con maíz como planta hospedante.

El cultivo evaluado fue frijol (*Phaseolus vulgaris* L. var. Talamanca). La semilla tenía un 97% de germinación y no fue tratada con fungicida. La siembra se realizó con espeque, colocando 3 semillas por hoyo, encima del fertilizante y del inóculo, a distancias de 35 cm entre plantas y 45 cm entre hileras.

Las variables estudiadas fueron: porcentaje de longitud de raíz colonizada por los hongos MA por el método de intersectos de Giovanetti y Mosse (1980), previa tinción por el método de Koske y Gemma (1989); rendimiento de grano seco (corregido al 13% de humedad) y peso seco a 105°C de nódulos formados por *Rhizobium* nativo. Estas variables fueron sometidas a un análisis de variancia y pruebas de medias.

## RESULTADOS

Se encontró mayores diferencias entre los tratamientos de fertilización que entre los de inoculación.

El Cuadro 1, muestra el peso seco de nódulos de *Rhizobium*. No se presentaron diferencias (P=0.980) entre NI y Gm; sin embargo, la fuente de P sí tuvo afectó (P=0.034) la nodulación. Con TSF el peso seco de los nódulos se incrementó con relación al testigo, independientemente del tratamiento de inoculación; el incremento promedio fue de 64%. Con RF, el peso de los nódulos no cambió respecto al testigo (P>0.05).

No hubo diferencias en el rendimiento de grano de frijol entre los tratamientos de inocula-

Cuadro 1. Peso seco  $\pm$  error estandar (g) de nódulos de *Rhizobium* de plantas de frijol (n=6, 36 plantas por muestra), inoculadas con *Glomus manihotis* (Gm) o no inoculadas (NI) y fertilizadas con triple superfosfato (TSF) y roca fosfórica (RF).

Tratamiento de fertilización	NI	Gm	Medias*
Testigo	0.228 $\pm$ 0.080	0.229 $\pm$ 0.018	0.228 <sup>b</sup>
TSF	0.369 $\pm$ 0.034	0.362 $\pm$ 0.063	0.375 <sup>a</sup>
RF	0.237 $\pm$ 0.067	0.255 $\pm$ 0.052	0.245 <sup>b</sup>
Medias	0.278	0.282	

\* Medias con letras iguales en una misma columna no difieren según prueba DMS (P $\leq$ 0.05).

ción (P=0.804) ni los de fertilización (P=0.794); tampoco hubo interacción entre ellos. Sin embargo, cuando se empleó fertilizante, el rendimiento medio obtenido fue 9.3% mayor que en el testigo (Figura 1). Además, en el testigo y en RF la media de rendimiento de Gm fue levemente mayor que la de NI (104 y 89 kg/ha, respectivamente), mientras que con TSF el rendimiento disminuyó en 37 kg/ha.

Los porcentajes de colonización por hongos MA oscilaron alrededor de 73% (Figura 2). No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos de inoculación (P=0.540) ni entre

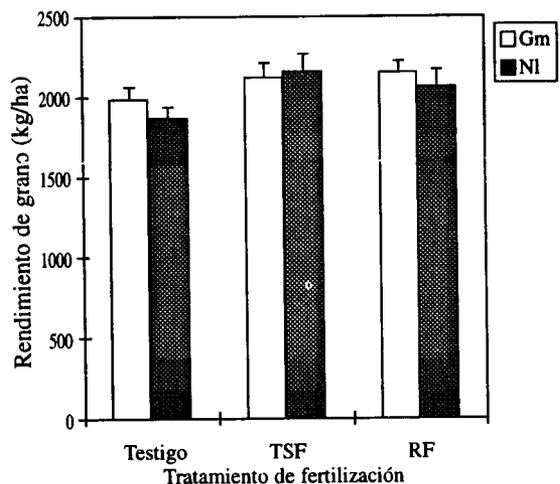


Fig. 1. Efecto de la inoculación con *Glomus manihotis* (Gm) y de la fertilización con triple superfosfato (TSF) o roca fosfórica (RF) sobre el rendimiento de frijol.

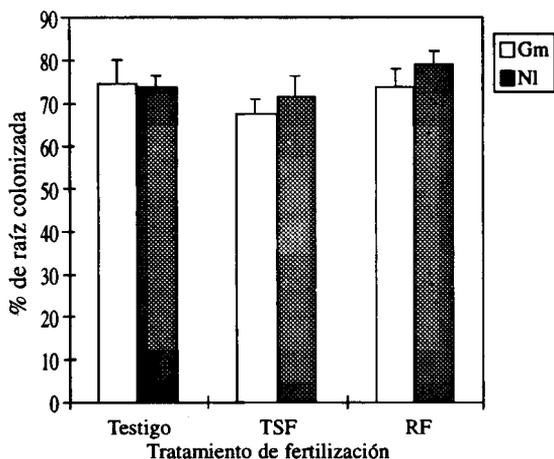


Fig. 2. Efecto de la inoculación con *Glomus manihotis* (Gm) y de la fertilización con triple superfosfato (TSF) o roca fosfórica (RF) sobre el porcentaje de raíz de frijol colonizada por hongos MA.

los tratamientos de fertilización ( $P=0.154$ ), aunque se notó una disminución cuando se empleó TSF. Las medias del testigo, TSF y RF fueron respectivamente 77, 64 y 76% de colonización por hongos MA. La inoculación con Gm en general no afectó el porcentaje de raíz colonizada, pues las medias de NI y Gm fueron de 75 y 72% respectivamente.

## DISCUSION

La inoculación con hongos MA efectivos es muy positiva para cultivos micotróficamente dependientes o facultativos. El efecto es más acentuado en suelos pobres en nutrientes, especialmente en P y si no hay competencia con microorganismos antagonistas o donde los hongos nativos no son efectivos (Sieverding 1991). Estas últimas condiciones se presentan, por ejemplo, cuando hay esterilización total o parcial del suelo.

En este experimento no se esterilizó el suelo. El aislamiento C-1-1 de *Glomus manihotis*, que fue agregado a la micorriza nativa del suelo, no superó a esta última, en cuanto al rendimiento del frijol se refiere. Estos resultados pudieron deberse a varios factores:

La receptividad del suelo hacia Gm es baja. Perrin y Plenchette (1993) definieron la receptividad de un suelo como su habilidad para permitir el desarrollo de la micorriza entre una planta hospedera y un inóculo de hongos MA.

Los hongos MA nativos fueron igualmente efectivos que Gm.

El P disponible en el suelo no fue una limitación para el desarrollo normal del frijol.

La competencia de microorganismos (incluidos los hongos MA nativos) interfirió con el desarrollo y efectividad de Gm.

Es difícil aceptar el primer factor como causa de la baja respuesta al Gm ya que, la cepa C-1-1 proviene de Ultisoles (Sieverding 1991); además su alta efectividad ha sido comprobada en diferentes tipos de suelo y cultivos, por ejemplo, en un Andisol esterilizado, con chile (*Capsicum annum* L.), gandul (*Cajanus cajan* L.), maíz (*Zea mays* L), pepino (*Cucumis sativus* L.) y puerro (*Allium porrum* L.) (Salas, 1990), o con varias especies de cítricos (*Citrus* sp.) y níspero común (*Eriobothrya japonica*) (Jiménez y Blanco 1996); en Ultisoles esterilizados, con frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Alvarado 1996, Bermúdez et al. 1993); en Ultisoles esterilizados, con diversos cultivos, o no esterilizados, con yuca (*Manihot esculenta*) y frijol (Sieverding 1991); en Alfisoles esterilizados, con especies forestales (Rojas 1992).

El segundo factor puede ser la verdadera explicación, pues Alvarado (1996) evaluó la efectividad para promover el crecimiento del frijol Talamanca, de 5 poblaciones nativas provenientes de la misma zona de nuestro experimento, en condiciones de suelo esterilizado y encontró que las efectividades fueron similares a las de Gm. Se puede considerar que el P disponible en el suelo no limitó el crecimiento y producción del frijol, no porque hubiera alta disponibilidad del mismo (6 ppm) en el suelo, sino por la efectividad de la micorriza nativa, la cual fue eficaz para proporcionar P a la planta en las cantidades que esta requería. Esto se evidenció al obtener diferencias mínimas de rendimiento entre las parcelas testigo y las fertilizadas con P. Tal vez, por este mismo motivo no se encontró diferencias entre el rendimiento de las parcelas fertilizadas con

roca fosfórica y las fertilizadas con triple superfosfato. Al respecto, Hayman (1987) indica que los hongos micorrizógenos nativos, algunas veces pueden ser tan efectivos y dispersarse tan rápidamente, que los tratamientos de inoculación no dan resultados. De igual forma no se encontró diferencias entre los porcentajes de infección por hongos MA al comparar ambas fuentes de fósforo Sieverding (1991), ha indicado resultados similares del efecto de éstas fuentes de fósforo sobre los porcentajes de infección en yuca; sin embargo, este mismo autor menciona que otros investigadores encontraron efectos más benéficos de la micorriza cuando utilizaron roca fosfórica que cuando usaron otras fuentes de P más solubles en agua.

La competencia entre los microorganismos y la micorriza introducida fue estudiada por Díaz y Honrubia (1995). En este experimento no se pudo demostrar la competencia porque no hubo un tratamiento con solo Gm, no obstante, todo organismo introducido en una comunidad, solo puede mantenerse si logra ocupar un espacio en ella, para lo cual tiene que competir con los organismos nativos. En este experimento, es muy posible que al momento de la siembra, la micorriza nativa estuviera activa gracias a las lluvias previas; esto le pudo haber dado alguna ventaja sobre el inóculo de Gm cuyo contenido micelial había disminuido su viabilidad durante el almacenamiento (5 días) y dependía entonces principalmente de las esporas, las cuales tardan más en producir una infección (Jarsfer y Sylvia 1993). Si algunas raíces no fueron colonizadas en su paso por la masa de inóculo de Gm colocada debajo de la semilla, entonces podrían haber sido colonizadas por la micorriza nativa. Así, el efecto supuestamente atribuido al inóculo de Gm es posible que se deba parcialmente a la micorriza nativa. Las consideraciones anteriores ponen de relieve la importancia de que en un campo no esterilizado, con alta densidad de propágulos infectivos, la inoculación se haga con suficiente volumen de inóculo fresco, debidamente ubicado y con adecuada concentración y viabilidad.

Este experimento demostró que la roca fosfórica presentó resultados similares al triple superfosfato, aunque éste último aumentó significativamente el peso seco de nódulos de *Rhizo-*

*bium*, probablemente porque es una fuente más soluble y se requiere de una cantidad adecuada de P en el momento de la infección y formación de nódulos. Sin embargo, el aumento en nodulación no estuvo asociado con un aumento en el rendimiento del frijol, probablemente debido a que el nivel presente de *Rhizobium* nativo en el suelo era suficiente para suplir las necesidades de N de las plantas de frijol.

En conclusión, el rendimiento del frijol var. Talamanca, bajo las condiciones de este ensayo, no respondió a la inoculación con micorriza introducida ni a la fertilización de 2 fuentes diferentes de P. Los efectos de estos tratamientos fueron enmascarados por la micorriza nativa, que al parecer fue eficaz en promover el crecimiento del frijol en un suelo con nivel bajo de P (6 ppm) y no fue afectada por la fertilización con este elemento.

## RECONOCIMIENTO

Esta investigación fue parcialmente financiada por el Programa de Reforzamiento a la Investigación Agronómica sobre los Granos en Centroamérica (PRIAG), a través del Proyecto ITR-043. Se agradece la cooperación de los Ing. Agr. Laura Alvarado y Roy Gutiérrez en el trabajo de campo y de laboratorio.

## LITERATURA CITADA

- ALVARADO, L. 1996. Efecto de las quemadas sobre las micorrizas vesículo arbusculares en sistemas de relevo frijol-maíz en un Ultisol de Pérez Zeledón. Tesis Lic. Universidad Nacional, Escuela de Ciencias Agrarias. Heredia, Costa Rica. 71 p.
- BERMUDEZ, M.; CASTRO B.L., AZCON, R. 1993. Efecto de la aplicación de roca fosfórica y la inoculación con micorrizas vesículo-arbusculares sobre el crecimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris*) en un Ultisol de Costa Rica. In: IX Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. Resúmenes de trabajos científicos Vol.II-(2). Colegio de Ingenieros Agrónomos de Costa Rica. San José, Costa Rica. p. 203.
- BRENES, L.E.; BORNEMISZA, E. 1992. Solubilización inicial de la roca fosfórica en Ultisoles de Costa Rica. Agronomía Costarricense 16(1):1-12.

- DIAZ, G.; HONRUBIA, M. 1995. Effect of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. *Biologia Plantarum* 37(1):121-129.
- GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84:498-500.
- HAYMAN, D.S. 1983. The physiology of vesicular-arbuscular symbiosis. *Can. J. Bot.* 61:944-963.
- HAYMAN, D.S. 1987. VA mycorrhizas in field crop systems. *In: Ecophysiology of VA mycorrhizal plants.* Ed. by G.R. Safir. CRC Press, Boca Raton. p. 171-192.
- JARSTFER, A.G.; SYLVIA, D.M. 1993. Inoculum production and inoculation strategies for vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *In: Soil Microbial Ecology.* Ed. by F.B. Metting, Jr. Marcel Dekker, Inc. New York. p. 349-377.
- JIMENEZ, S.; BLANCO, F.A. 1996. Ensayo de aislamientos de hongos micorrícicos en portainjertos de cítricos (*Citrus* sp.) y en níspero común (*Eriobotrya japonica*). *In: X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. Memoria: Suelos Vol. III. Colegio de Ingenieros Agrónomos de Costa Rica.* San José, Costa Rica. p.100.
- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research* 92(4):486-488.
- MOSSE, B. 1973. Advance in the study of vesicular- arbuscular micorrhiza. *Ann. Rev. Phytopath.* 11:171-196.
- PERRIN, R.; PLENCHETTE, C. 1993. Effect of some fungicides applied as soil drenches on the mycorrhizal infectivity of two cultivated soils and their receptiveness to *Glomus intrarradices*. *Crop Protection* 12:127-133.
- POWELL, C.L.L.; METCALFE, D.M.; BUWALDA, J.G.; WALLER, J.E. 1980. Phosphate response curves of mycorrhizal and non-mycorrhizal plants. II Responses to rock phosphates. *N.Z. Journal of Agricultural Research* 23:477-482.
- RAMIREZ, G. 1980. Uso de roca fosfórica como fuente de P en algunos suelos ácidos de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 4(1):33-39.
- ROJAS, M.I. 1992. Efecto de la micorrización sobre el crecimiento de 3 especies forestales en 2 suelos de Guanacaste, Costa Rica. Tesis Maestría. Universidad de Costa Rica. 73 p.
- SALAS, E. 1990. Selección de plantas hospederas para la reproducción de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares (MVA), en macetas. Tesis Lic. Universidad Nacional, Escuela de Ciencias Agrarias. Heredia, Costa Rica. 94 p.
- SANCHEZ, P.A.; SALINAS, J.G. 1981. Low-input technology for managing Oxisols and Ultisols in tropical America. *Advances in Agronomy* 34: 279-406.
- SIEVERDING, E.; GALVEZ, A. L. 1988. Soil and phosphate sources affect performance of VA Mycorrhizal fungi with cassava. *Angew. Botanik.* 62:283-293.
- SIEVERDING, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizal management in tropical agrosistemas. Technical Cooperation, Federal Republic of Germany. 371 p.