

EVALUACIÓN DE LA FERTILIZACIÓN BIOLÓGICA DEL FRIJOL CON CEPAS NATIVAS DE *Rhizobium* AISLADAS DE UN ULTISOL DE LA ALTIPLANICIE DEL ESTADO GUARICO¹

EVALUATION OF THE BIOLOGICAL FERTILIZATION ON COWPEA WITH NATIVA *Rhizobium* STRAINS ISOLETED FROM AN ULTISOL IN LANDPLANE GUARICO STATE¹

Belkys Rodríguez* y Marisol López*

¹Trabajo financiado por el Convenio Cuba-Venezuela y el Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (Fonacit) bajo los proyectos: "Innovación Tecnológica en Biofertilizantes para Agroecosistemas Venezolanas Sustentables" 7-281-150-341 y "Evaluación de Prácticas de Manejo Conservacionista en Suelos Ácidos del municipio Espino-Guárico en un Sistema de Producción de Cereal Leguminosa", S1-2002000391, respectivamente.

*Investigadoras. INIA-CENIAP. Maracay, estado Aragua, Venezuela. E-mail: brodriguez@inia.gob.ve; mlopez@inia.gob.ve

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la fertilización biológica en frijol, *Vigna unguiculata* L., con cepas nativas de *Rhizobium* aisladas de un Ultisol de la altiplanicie en condiciones de mesa del estado Guárico sobre la producción de materia seca (MS), porcentaje de nódulos (PN), masa nodular (MN), actividad nodular, (AN), absorción de nitrógeno (N) y absorción de fósforo (P), en condiciones de invernadero. Los tratamientos evaluados fueron: sin biofertilizante, biofertilización con la cepa 1, biofertilización con cepa 2 y biofertilización con una combinación de las cepas 1 y 2, conjuntamente con la aplicación de una fertilización basal de N, P y K reducida, obteniéndose a partir de las variables medidas que la cepa 1 mostró una alta capacidad para colonizar el cultivo, lo cual la convierte en el biofertilizante con mayor potencial para gestionar la fertilización del frijol en los conucos llaneros presentes en la altiplanicie.

Palabras Clave: Biofertilizantes; fertilidad; simbiosis; *Vigna unguiculata* L.; *Rhizobium*.

SUMMARY

The effect of biological fertilization on cowpea, *Vigna unguiculata* L., with native *Rhizobium* strains isolated from an ultisol in landplane condition of Guárico state, Venezuela, was evaluated on dry matter production (MS), nodules percentage (PN), nodular mass (MN), nodular activity (AN), nitrogen uptake (N) and phosphorus uptake (P), in an experiment carried out in greenhouse conditions. The evaluated treatments were: without biofertilization (control), biofertilization with strain 1, biofertilization with strain 2 and biofertilization with consortium strains 1 + 2, jointly with the application of a reduced basal fertilization of N, P and K. the strain 1 showed high capacity to colonize the crop, which turn it into biological fertilizer with the greatest potential to manage cowpea fertilization in llaneros homegarden in landplane conditions.

Key Words: Cowpea; biofertilizers; fertility; symbiosis; *Vigna unguiculata* L.; *Rhizobium*.

RECIBIDO: noviembre 27, 2008

ACEPTADO: febrero 02, 2009

INTRODUCCIÓN

El frijol, *Vigna unguiculata* L., es fundamental en la alimentación de las poblaciones rurales de Venezuela. Su composición con 23% de proteína y 56% de carbohidratos, así como también, contenidos de grasa, fibra, minerales y vitaminas, lo convierten en una excelente alternativa nutricional para el desarrollo fisiológico, cognitivo, intelectual, físico y emocional de las comunidades llaneras, mediante la ingesta de una alimentación balanceada (De Gouveia *et al.*, 2005).

El volumen de producción de leguminosas comestibles en Venezuela para el 2007 fue de 39 779 t, representando el frijol 42,54%, lo cual indica su importancia en la dieta de los venezolanos (FEDEAGRO, 2008).

La región oriental del Guárico abarca una superficie de 3 748 338 ha, de las cuales la altiplanicie en condiciones de mesa representa 49,2%; los órdenes de suelo predominantes son una asociación de Ultisoles, Oxisoles y Entisoles estrechamente ligados a la superficie de las mesas planas (conservadas), siendo los sistemas de producción más relevantes la ganadería doble propósito, en combinación con la producción de maíz y sorgo, así como, el conuco llanero que incluye la producción de frijol, topocho y yuca para auto consumo (Riera y Guerrero, 1984). En estos suelos de muy baja fertilidad se ha demostrado la necesidad de aplicar una dosis mínima de N para frijol y otras leguminosas con el propósito de estimular el proceso de fijación biológica de nitrógeno (FBN) España *et al.*, 2006.

En las sabanas bien drenadas de las mesas orientales para fertilizar el frijol se recomienda la aplicación de una dosis basal de 20 kg ha⁻¹ de N, en combinación con 30-120 kg ha⁻¹ de P y 20-70 kg ha⁻¹ de K, dependiendo de los niveles de disponibilidad en el suelo (Chauran *et al.*, 2008).

Los bajos requerimientos de fertilización nitrogenada por parte del frijol, se deben a su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico (N²), habiéndose demostrado que la simbiosis *V. unguiculata* - *Rhizobium* constituye un sistema de FBN de mediana eficiencia (Hardarson y Danso, 1991). Igualmente, *V. unguiculata* posee una gran habilidad para adaptarse a diferentes condiciones edafoclimáticas.

El uso de cepas nativas de *Rhizobium* inoculadas artificialmente representa la posibilidad de gestionar la fertilización biológica del cultivo, mediante el uso de biofertilizantes, con la finalidad de suplementar el nitró-

geno, así como, activar procesos bioquímicos adicionales asociados con otros microorganismos presentes en el suelo. De esta forma, se puede incrementar la disponibilidad de otros nutrimentos y sustancias promotoras del crecimiento, lo que constituye una alternativa ecológica y económicamente viable. Por otra parte, los biofertilizantes son generados a través de procesos microbianos rápidos, pudiendo aplicarse en pequeñas cantidades para solucionar problemas de baja fertilidad (Martínez *et al.*, 2006a).

Entre los métodos sugeridos para evaluar el grado de la simbiosis y sus posibles efectos sobre la fijación de N², se encuentran la cantidad de materia seca (MS) producida, el número, masa y coloración de los nódulo, así como, la cantidad de N presente en el tejido; otros métodos utilizados son: la actividad de la nitrogenasa, la cantidad de ureidos presentes en el xilema y el uso de Técnicas Isotópicas con ¹⁵N (Hardarson y Craig, 2003). Dichos métodos presentan diferentes niveles de complejidad y costos económicos, permitiendo conocer la actividad de fijación en un momento dado, determinar la cantidad de N proveniente de los nódulos y estimar la cantidad de N fijado en distintos períodos de crecimiento de la planta.

El objetivo del trabajo fue evaluar la fertilización biológica del frijol con cepas nativas de *Rhizobium* aisladas de la Rizósfera de *V. unguiculata* en un suelo Ultisol de la altiplanicie en condiciones de mesa del estado Guárico.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el invernadero de Recursos Agroecológicos del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA).

El suelo utilizado correspondió a un Typic Paleustults, francosa gruesa, caolínica, isohipertérmica de la altiplanicie en condiciones de mesa disectada de Guárico, presentando baja fertilidad natural, disponibilidad de fósforo-Olsen menor a 3 mg kg⁻¹, potasio-Olsen igual a 20 mg kg⁻¹, calcio-Morgan menor a 50 mg kg⁻¹ y magnesio-Morgan menor a 20 mg kg⁻¹; de reacción ácida, pH < 5,4 y textura gruesa (Fa, aF).

Los tratamientos evaluados fueron: un testigo sin biofertilizante (sin cepa), biofertilización con cepa 1, biofertilización con cepa 2 y biofertilización con una combinación de las cepas 1 + 2 a fin de explorar alguna posi-

bilidad asociativa, para el desarrollo de biopreparados basados en mezclas; utilizando un diseño completamente aleatorizado con 4 repeticiones.

El material genético sembrado fue la variedad Tuy, a razón de 4 semillas por pote con capacidad de 4 kg de suelo, después de germinadas las semillas fueron seleccionadas las 3 plántulas más vigorosas. Los tratamientos recibieron una fertilización basal en kg ha⁻¹ de 0 de N, 25 de P y 50 de K, como resultado de una reducción del requerimiento del fríjol en 100, 80 y 30% para cada nutrimento, respectivamente, con relación a las dosis recomendadas para la altiplanicie en condiciones de mesa (Chuaran *et al.*, 2005); las cuales fueron relacionadas en gramos por pote para proceder a pesar los fertilizantes inorgánicos antes de su aplicación.

Las cepas utilizadas provienen del cepario del INIA-CENIAP, aisladas de la Rizósfera de *V. unguiculata* en la altiplanicie de mesa del estado Guárico mediante colectas realizadas en la región. Los inoculantes fueron preparados en medio YMA líquido, manteniendo una concentración de 108 UFC ml⁻¹, los cuales fueron aplicados al momento de la siembra (Martínez *et al.*, 2006b).

El experimento fue cosechado a los 52 días después de la siembra (DDS), evaluándose MS, (g/pote), porcentaje de nódulos (PN, %), masa nodular (MN, g/pote), actividad de los nódulos (AN) a través de la coloración interna (Hardarson y Craig, 2003), N y P absorbido en planta (mg/pote) mediante una digestión de ácido sulfúrico más peróxido y determinación calorimétrica (Jones *et al.*, 1991). Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y comparación múltiple de medias a través de la prueba de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las variables MS ($P \leq 0,05$), PN ($P \leq 0,01$), MN ($P \leq 0,05$), N ($P \leq 0,05$) y P ($P \leq 0,05$) mostraron diferencias significativas a los tratamientos, indicando distintas habilidades de las cepas para colonizar el frijol. El valor más alto de MS, se obtuvo con la cepa 1 seguido de la cepa 2 y la combinación cepa 1 + cepa 2 (Figura 1).

Los resultados de PN y MN evidencian la mayor compatibilidad entre la cepa 1 - cultivar Tuy - suelo, considerando la nodulación lograda por el cultivo (Figuras 2 y 3). Esto debido posiblemente al establecimiento de una comunicación entre hospedero-hospedante más específica, a través de los exudados emitidos por la raíz de la planta (Reyes *et al.*, 2008), la cual se ha demostrado

ocurre a partir de la acción de proteínas específicas y el intercambio de señales mediante la secreción de polisacáridos y proteínas, donde se ha identificado a los flavonoides, como reguladores de la expresión de los genes, pudiendo incluso aplicarse artificialmente tanto a la semilla, como al suelo para mejorar la nodulación (Martínez *et al.*, 2006a).

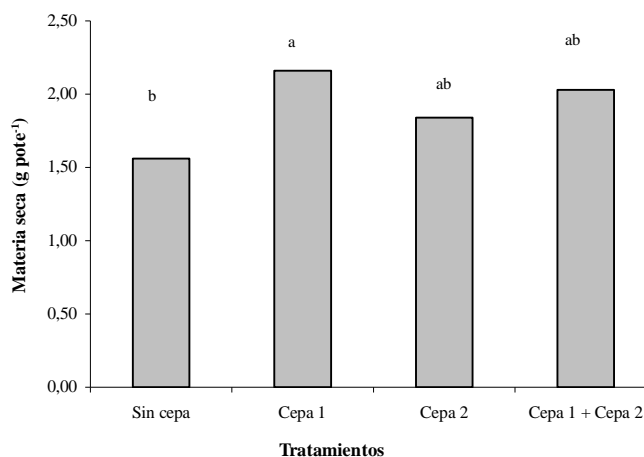


FIGURA 1. Efecto de la biofertilización sobre la acumulación de la materia seca.

Sin embargo, no se observó el mismo patrón de comportamiento con el resto de los tratamientos, en PN, la cepa 2 y la combinación cepa 1 + cepa 2, no mostraron diferencias, sino, con respecto al tratamiento sin biofertilización; en MN, el tratamiento sin biofertilización, la cepa 2 y la combinación cepa 1 + cepa 2, se comportaron estadísticamente igual, encontrándose que PN pudiera ser un indicador más representativo de la simbiosis debido a la similitud de su patrón de comportamiento con MS.

Estas diferencias en la efectividad de la simbiosis para las distintas cepas evaluadas podría ser explicada por la especificidad entre la planta hospedera y la bacteria, la cual ocurre en 3 niveles: la formación de los nódulos, la eficiencia de fijación de N y el grado en que la fijación de N satisface los requerimientos de la planta (Martínez *et al.*, 2006a). De la misma forma, se ha encontrado que en suelos de sabana con texturas franco-arenosas, el peso y número de nódulos en plantas de frijol, fue superior al de plantas del mismo cultivo creciendo en suelos franco arcillosos bajo condiciones de vega (Méndez *et al.*, 2007).

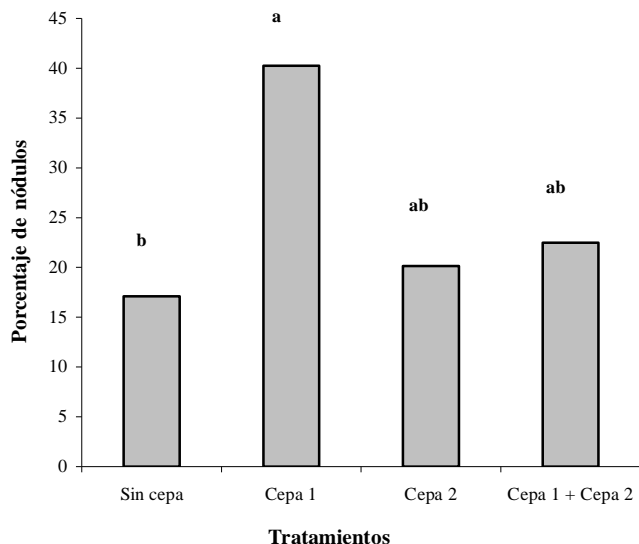


FIGURA 2. Efecto de la biofertilización sobre el porcentaje de nódulos.

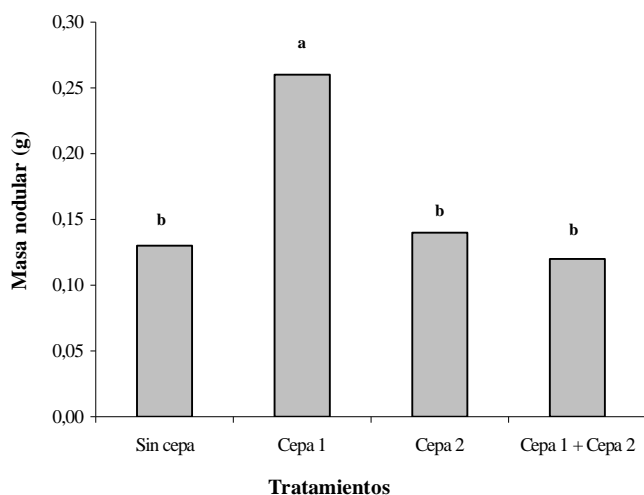


FIGURA 3. Efecto de la biofertilización sobre la masa nodular.

Los tratamientos que recibieron biofertilización mostraron nódulos de rosado, a muy rosado, en contraste con el tratamiento que no recibió fertilización biológica, presentando los nódulos un color pálido (ver Cuadro). Esto guarda relación con la presencia de leghemoglobina, la cual se ha demostrado es la responsable de la coloración de los nódulos, infiriéndose su presencia en los tratamientos que recibieron biofertilización y destacándose la importancia de la coloración interna de los nódulos en la selección de cepas nativas más efectivas en la fijación de N². Igualmente, la palidez de los

nódulos de las plantas que no recibieron biofertilización, pudiera atribuirse a una baja concentración de leghemoglobina por una condición de baja fertilidad, lo cual afecta el transporte de oxígeno a los bacteroides (Becana *et al.*, 1991).

CUADRO. Actividad de los nódulos.

Tratamientos	Actividad nodular
Sin cepas	Pálido
Cepa 1	Rosado
Cepa 2	Rosado
Cepa 1 + Cepa 2	Muy rosado

La absorción de N y P por la planta fue mayor en el tratamiento de biofertilización con la cepa 1. La inoculación con la cepa 2 y la combinación cepa 1 + cepa 2 mostraron absorciones similares para ambos elementos, encontrándose la menor cantidad absorbida de N y P en el tratamiento sin biofertilización. Estos resultados confirman las mejores condiciones de desarrollo simbiótico con la cepa 1 (Figuras 4 y 5). En el caso particular de P, pudiera estar ocurriendo una estimulación de las poblaciones nativas de microorganismos solubilizadores de fósforo por efecto asociativo con la cepa 1 (Martínez y Dibut, 2006; López *et al.*, 2008) o debido a la capacidad de algunas cepas de *Rhizobium* para disolver fosfatos (Peña y Reyes, 2007).

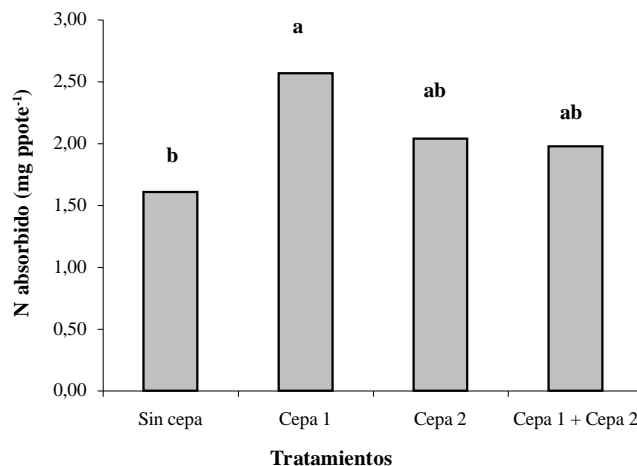


FIGURA 4. Efecto de la biofertilización sobre el N absorbido en planta.

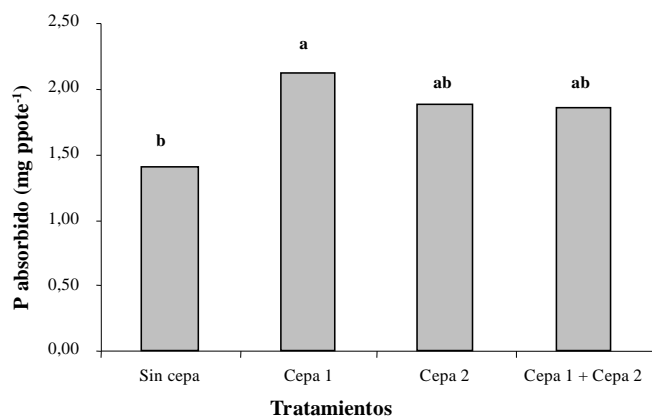


FIGURA 5. Efecto de la biofertilización sobre el P absorbido en planta.

CONCLUSIÓN

- La cepa 1 demostró potencialidad para gestionar la biofertilización del frijol en un suelo de muy baja fertilidad, lo que pudiera conducir al aprovechamiento de la diversidad microbiológica en estas condiciones para promover el desarrollo local de las comunidades rurales llaneras, con énfasis en la agricultura de pequeña escala.

BIBLIOGRAFÍA

- Becana, M. y E. Begmar. 1991. Metabolismo del nitrógeno y oxígeno en nódulos de leguminosas. **In:** Fijación y movilización biológica de nutrientes. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. España. p. 33-50.
- Chauran, O., J. Tenías y M. España. 2008. Leguminosas. **In:** Manual de Alternativas de Recomendaciones de Fertilizantes para Cultivos Prioritarios en Venezuela. Maracay. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. 400 p. (Serie B N° 18).
- Confederación Nacional de Asociaciones de Productores Agropecuarios (FEDEAGRO). 2008. Estadísticas de Producción. www.fedeagro.org
- De Gouveia, M., Á. Bolívar, M. López, A. Salih y H. Pérez. 2005. Participación de Agricultores en la selección de materiales genéticos de frijol (*Vigna unguiculata*) evaluados en suelos ácidos de la Parroquia Espino, estado Guárico. Cuadernos de Desarrollo Rural. 54(1):113-129.
- España, M., E. Cabrera-Bisbal and M. López. 2006. Study of nitrogen fixation by tropical legumes in acid soil from Venezuelan savannas using ¹⁵N. *Interciencia*. 31(3):197-201.
- Hardarson, G. y S. K. A. Danso. 1991. Métodos para medir la fijación biológica de nitrógeno en leguminosas de grano. Aumento de la fijación biológica del nitrógeno en el frijol común en América Latina Resultados de un Programa FAO/OIEA de investigación Coordinada 1986-1991 Editores J. J. Peña Cabriales F. Zapata México p. 19.
- Hardarson, G. and A. Craig. 2003. Optimising biological N₂ fixation by legumes in farming systems. *Plant and soil*. 252(1):41-54.
- Jones, Jr., J., B. Wolf and H. Mills. 1991. *Plant Analysis Handbook*. Micro-Macro Publishing, Inc. Athens, GA. pp. 213.
- Martínez, R., M. López, B. Dibut, C. Parra y J. Rodríguez. 2006a. La fijación biológica del nitrógeno atmosférico en condiciones tropicales. Edición: Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierra. 172 p.
- Martínez, R. y B. Dibut. 2006. Practical Applications of bacterial biofertilizers and biostimulators. **In:** Biological approaches to sustainable soil systems. Taylor and Francis group, LLC. 764 p.
- Martínez, R., M. López, M. Brossard, G. Tejada, H. Pereira, C. Parra, J. Rodríguez y A. Alba. 2006b. Procedimientos para el estudio y fabricación de biofertilizantes bacterianos. Maracay, Ven. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. 88 p. (Serie B N° 11).
- Méndez, J., V. Otahola, R. Pereira, J. Simosa, L. Tellis y E. Zabala. 2007. Comparación del desecho de un fluido de perforación base agua no disperso con la fertilización química en el cultivo del frijol. *Idesia* Vol. 25(1):17-20.
- López, M., R. Martínez-Viera, M. Brossard, A. Bolívar, N. Alfonso, A. Alba y H. Pereira. 2008. Efecto de biofertilizantes bacterianos sobre el crecimiento de un cultivar de maíz en dos suelos contrastantes venezolanos. *Agronomía Trop*. 58(4):391-401.

- Peña, H. y I. Reyes. 2007. Aislamiento y evaluación de bacterias fijadoras de nitrógeno y disolventes de fosfato en la promoción del crecimiento de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Interciencia* 32:560-565.
- Reyes, I., L. Álvarez, H. El-Ayouli y A. Valery. 2008. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. *Bioagro*. 20:37-38.
- Riera, J. y I. Guerrero. 1984. Caracterización agroecológica de la región oriental del Guárico. Subestación experimental Valle de la Pascua. Fonaiap. Mimeografiado. 159 p.