

Respuesta del frijol de soya a la inoculación con hongos de las micorrizas vesículo- arbusculares en condiciones de campo*

María O. OROZCO**, Eduardo FURRAZOLA**, Enrique POUYÜ** y Roberto L. FERRER**

ABSTRACT. The response of soybean (*Glycine max* L.Merr.) plants to inoculation with two isolates (*Glomus fasciculatum* and *Gl. manihotis*) of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions is reported. The trials were carried out in the localities of San José and Bainoa, (both in the province of Havana, Cuba), on red ferralitic soils, with concentrations of available phosphorous of 289 and 3.7 ppm (BrayII), respectively. Inoculated cultures had generally greater yields than non inoculated controls in the present of indigenous fungi. In the trial developed at Bainoa, the yields from inoculated plants were similar to those receiving chemical fertilization.

KEY WORDS. *Glomus fasciculatum*, *Gl. manihotis*, *Glycine max*, tropical soils, field conditions.

INTRODUCCIÓN

Las micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) son una asociación simbiótica que se establece entre un grupo de hongos del suelo pertenecientes al orden Glomales y las raíces de la mayoría de las plantas superiores. Dicha asociación ha sido ampliamente estudiada por su importancia para el crecimiento y nutrición de las plantas (Gianinazzi-Pearson, 1991). De forma general puede decirse que las micorrizas son realmente, los principales órganos encargados de la captación de nutrientes por la mayoría de los vegetales (Harley and Smith, 1983).

Existe numerosa información de la respuesta favorable del frijol de soya (*Glycine max* L. Merr.) a la inoculación con endomicorrizas (Carling *et al*, 1978; Young *et al*, 1986; Singh y Singh, 1993) sin embargo la mayoría de los trabajos se han realizado en condiciones de invernadero donde el suelo es previamente esterilizado para posteriormente inocular con el inóculo de la cepa seleccionada de MVA.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta de frijol de soya a la inoculación con dos cepas de endomicorrizas, *Glomus fasciculatum* y *Gl. manihotis* en dos agroecosistemas de Provincia Habana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos ensayos en las áreas experimentales del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) ubicadas en las localidades de San José (1) y Bainoa (2), Provincia Habana. En ambas localidades el suelo es del tipo ferralítico rojo (ferralsol según Hernández *et al*, 1999.). Las características químicas de los suelos aparecen en la Tabla I.

Los tratamientos empleados fueron los siguientes: Control (C), no inoculado, presencia de los hongos MVA nativos y demás microbiota de la comunidad del suelo; Fertilizado (F), (150 kg/ha NH_4NO_3 , 50 kg/ha SSP (superfosfato simple) y 50 kg/ha KCl). Los tratamientos de inoculación consistieron en el empleo de las siguientes cepas de hongos MVA: *Glomus fasciculatum* (M1) y *G. manihotis* (M2). En ambos casos los inóculos consistieron en la mezcla previamente homogenizada de suelo con raicillas infectadas, esporas y fragmentos de micelio procedentes de la colección de cultivos puros del Instituto de Ecología y Sistemática (CITMA). La inoculación se realizó de forma manual sobre el surco aplicando una dosis de 400g/metro lineal. Se consideró un tratamiento adicional M2P inoculado con una bacteria solubilizadora de fósforo (BSP) en el caso de San José.

En ambas localidades se cultivaron plantas de soya de la variedad G7R-315 durante 14 y 18 semanas para San José y Bainoa respectivamente.

En la cosecha fueron registradas las siguientes variables: altura de las plantas (cm), número de vainas, masa seca de raíces (g), porcentaje de colonización micorrizica y rendimiento (granos producidos t/ha).

Los niveles de micorrización fueron determinados según Giovanetti y Mosse, 1980, previa tinción de las raicillas (Phyllips y Hayman, 1970).

Se realizó un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas por tratamiento. Cada parcela tenía un área de 14 m² (5.00m x 2.80m) con cuatro surcos (dos surcos centrales fueron considerados como área de cálculo, área = 7m²). En ambas localidades se aplicó el mismo diseño experimental. Las comparaciones entre tratamientos para las variables estimadas se realizaron mediante ANOVA de clasificación simple, con posterior comparación de medias mediante la Prueba de Duncan (p<0.5).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1. Los valores registrados para las diferentes variables no fueron significativamente diferentes excepto en el caso del tratamiento fertilizado (Tabla 2). No obstante, los rendimientos fueron superiores en todos los tratamientos inoculados con MVA en comparación con el control (C: no fertilizado en presencia de hongos nativos). La inoculación con la cepa M2 incrementó significativamente tanto la altura como el rendimiento de la soya. En el caso del rendimiento se obtuvo un 49% de incremento neto en comparación con el control (C).

Los porcentajes de colonización micorrizica en las raíces pueden considerarse relativamente bajos y no difirieron significativamente. Sin embargo, la inoculación con M2 con sólo un 44% de colonización micorrizica alcanzó los valores más altos en altura y rendimiento de las plantas lo que indica una mayor eficiencia de esta cepa pese a ser la menos infectiva.

El número de esporas de Glomales presentes en la población de hongos nativos fue bajo (66 esporas/100g de suelo seco), todas pertenecientes al género *Glomus*. Probablemente los valores elevados del P asimilable en este suelo (289 ppm Bray II) tuvieron una influencia negativa en el desarrollo de la micorrización. Aunque se acepta que la respuesta de las plantas a la inoculación con MVA es más factible en suelos de baja y moderada fertilidad (Azcón G. de Aguilar y Barea,

*Manuscrito aprobado en Junio de 1999.

**Instituto de Ecología y Sistemática, A.P. 8029, C.P. 10800, La Habana, Cuba.

1980) también se obtiene respuesta a la inoculación en suelos de alta fertilidad química (Sieverding y Barea, 1991). Así mismo Herrera *et al.*, 1994, encuentran respuestas favorables a la inoculación con diferentes cepas de hongos MVA utilizadas en condiciones muy diversas en cuanto a cultivos y tipos de suelos ensayados. Es de destacar que estos autores realizaron experimentos en 33 suelos pertenecientes a 12 de los tipos más distribuidos en Cuba, muchos de los cuales son considerados suelos fértiles.

En realidad, el desarrollo de los hongos MVA se afecta negativamente por el desbalance de los macronutrientes en el suelo (P, N y K) y no por valores elevados de P (Herrera *et al.*, 1984).

En nuestro caso, las cepas de Glomales presentes en el suelo de San José parecen tener cierto grado de adaptabilidad a concentraciones de P asimilables elevadas, ya que de lo contrario los valores del porcentaje de colonización MVA debieron disminuir más drásticamente.

La inoculación con una BSP tuvo un efecto negativo sobre la emergencia de las plántulas en todos los tratamientos en que se aplicó la misma, por lo que estas parcelas tuvieron que ser eliminadas del ensayo. Sin embargo este efecto negativo no se presentó en el caso de la inoculación de la BSP en combinación con la cepa de *G. manihotis*. Al parecer este hongo presenta un comportamiento de control biológico, frente a esta bacteria que sorprendentemente en este caso ha resultado perjudicial al crecimiento vegetal. Este antagonismo microbio-microbio, se expresó en los primeros 14 días de sembradas las plantas. Se sabe que las MVA desarrollan mecanismos de control de patógenos mediante la producción de fitoalexinas, (Morandi y Gianinazzi-Pearson, 1986), sin embargo en este caso dado que el fenómeno se presenta en etapas muy tempranas parece ser otra la naturaleza del mecanismo, involucrando una reacción de especificidad muy aguzada.

También algún microorganismo de la rizosfera asociada a este inóculo pudo contrarrestar el efecto negativo de la BSP. En cualquier caso ésta interacción deberá ser más profundamente estudiada.

Experimento 2. En la Tabla 3 puede observarse que no se registraron diferencias significativas para la altura, número de vainas y peso seco de las raíces de las plantas (excepto para el tratamiento fertilizado en el caso de las dos primeras variables). En la cosecha, se obtuvieron rendimientos con incrementos netos de 47% y 38% para M1 y M2 respectivamente. Estos valores fueron mayores y significativamente diferentes de los obtenidos en el control colonizado por los hongos nativos, y comparables al tratamiento fertilizado donde el incremento neto fue 46% (similar a la actividad de M1).

Los porcentajes de colonización de micorrízica fueron superiores al 60% en todos los casos excepto en el tratamiento fertilizado. Los resultados de esta variable son comparables a los obtenidos en experimentos de campo por otros autores (Sieverding, 1991; Khasa *et al.*, 1992).

En el estudio de las comunidades de hongos nativos de la localidad de Bainoa fueron encontrados los géneros: *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora* y *Glomus*, con un total de 71 esporas/100 g de suelo seco como valor promedio. Fueron identificadas las siguientes especies *Acaulospora* sp1, *G. albida*, *S. calospora*, *Gl. brohultii*, *Glomus* sp1, *Glomus* sp2 y *Glomus* sp3. El número relativo de esporas (%) del género *Glomus* representó el 59% de la población total.

La dosis de inóculo utilizada en ambos experimentos (5.7 t/ha) fue inferior a la empleada en ensayos realizados en condiciones de campo por otros autores (Tabla 4) sin embargo los rendimientos alcanzados fueron superiores en nuestro caso.

En general, de los resultados obtenidos en ambos experimentos, puede considerarse que los incrementos obtenidos en el rendimiento del frijol de soya inoculado con las cepas M1 y M2, en comparación con los controles no inoculados (en presencia de hongos nativos), justifican la utilización práctica de estos hongos en condiciones de campo.

El hecho de que las plantas inoculadas hayan alcanzado un rendimiento equivalente al obtenido en el tratamiento fertilizado, resulta particularmente importante en el experimento 2. Además los rendimientos alcanzados en esta localidad (Bainoa), cuando se inocula con dichos endófitos, son comparables a los obtenidos para la misma variedad de este cultivo, cuando se aplicaron 75 kg de N/ha en primavera en un suelo similar. (Pijeira *et al.*, 1988).

Sin embargo, en cultivos extensivos como el frijol de soya, el cual no tiene fase de semillero, sería necesario obtener suficiente cantidad de inóculo de la cepa seleccionada previamente a la inoculación en campo. En este sentido ha sido informada una tecnología de recubrimiento de las semillas (peletización) con resultados favorables, que podría ser una solución práctica a la inoculación de cultivos extensivos, (Fernández *et al.*, 1997).

Adicionalmente las cepas efectivas para el frijol de soya podrían ser reproducidas en cultivos con fase de semillero y de esta forma fácilmente propagadas en el campo.

Agradecimientos. El autor principal agradece a la Fundación Internacional para la Ciencia (IES) la ayuda brindada en el desarrollo de este trabajo. También a los compañeros del Dpto. de Biofertilizantes del Instituto de Ecología y Sistemática. Finalmente muchas gracias al colectivo del Dpto. de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas.

REFERENCIAS

- Azcón Aguilar C. y J.M. Barea, 1980. *Micorrizas*. Investigación y ciencia (Scientific American). 47:83-91.
- Carling DE., MF. Brown y RA. Brown, 1978. Colonization rates and growth responses of soybean plants infected by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Can. J. Bot.* vol. 37:1769-1772.
- Fernández, F., R. Ortiz, M. A. Martínez, A. Costales y D. Llonin 1997. The effect of commercial arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculants on rice (*Oriza sativa*) in different types of soils. *Cultivos Tropicales* 18 (1): 5-9.
- Gianinazzi-Pearson, V. 1991. Fisiología de las micorrizas vesículo-arbusculares. En: J. Olivares y J. M. Barea (eds.). *Fijación y Movilización de Nutrientes*. Vol. II. Capítulo 18, pp. 175-202. CSIC, Madrid, España.
- Giovanetti M. y B. Mosse 1980. And evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84:489-500.
- Harley JL y SE. Smith, 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London.
- Hernández A., J. M. Pérez, D. B. Infante, L. R. Ramos, E. C. Díaz *et al.* 1999. *Nueva Versión de clasificación genética de los suelos de Cuba*. Instituto de Suelos. MINAGRI. La Habana, Cuba, 64 pp.

- Herrera RA., RL. Ferrer ,L. Ruiz , F. Fernández , N. Medina ,E. Furrázola , MO. Orozco , JR. Cueto , MJ. García, L. Expósito, E. Pouyú, L. Ojeda , AR. Valdés, R. Rivera y C. Sánchez, 1994. Empleo de hongos micorrizógenos para mejorar la producción sostenible de biomasa en cultivos tropicales. *Memorias de la Conferencia Mundial sobre el empleo de la biomasa para la energía, el desarrollo y el medio ambiente*. CITMA. Eurosolar. La Habana. (en prensa).
- Herrera RA, RL. Ferrer, MO. Orozco, G. Hernández y V. Vancura 1984. Fertilización y micorrizas VA. II. Análisis del balance de macroelementos en varios experimentos. *Acta Botánica Cubana*, No. 20 (especial), ACC, pp. 111-142.
- Khasa P., V. Furlan y JA. Fortin, 1992. Response of some tropical plants species to endomycorrhizal fungi under field conditions. *Trop. Agric.* (Trinidad). 69 (3): 279-283.
- Morandi D. y V. Gianinazzi-Pearson 1986. Influence of mycorrhizal infection and phosphate nutrition on secondary metabolite contents on soybean roots. En: V. Gianinazzi-Pearson y S. Gianinazzi (eds). *Physiological/genetical aspects of Mycorrhizae*. INRA, París, Francia, pp. 787-791.
- Phillip JM. y DS. Hayman, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. BR. Mycol. Soc.* 55:158-161.
- Pijera L., E. Treto, JD. Medero, J. Corbera, A. Velasco, M. Castellanos y M. Medina, 1988. La nutrición y fertilización de la soya cultivada en condiciones de suelo ferralítico rojo compactado. *Cultivos tropicales*. Vol 10 No 3.
- Sieverding E y JM. Barea 1991. Perspectivas de la inoculación de sistemas de producción vegetal con hongos formadores de micorrizas V.A. En: Olivares J y Barea JM (eds). *Fijación y movilización biológica de nutrientes*. Vol. II. Fijación de N y Micorrizas. CSIC. Madrid, pp 221-245.
- Sieverding, E. 1991. *Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystem*. Bremer Verlag, Germany.
- Singh HP. y TA. Singh 1993. The interaction of rockphosphate, *Bradyrhizobium*, vesicular-arbuscular mycorrhizae and phosphate-solubilizing microbes on soybean grown in a sub-Himalayan mollisol. *Mycorrhiza* 4:37-43.
- Young CC., TC. Juang y HY. Guo, 1986. The effect of inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on soybean yield and mineral phosphorus utilization in subtropical-tropical soils. *Plant and Soil* 95:245-253.

Tabla 1. Características químicas de los suelos en las localidades de San José y Bainoa. Acidez del suelo: pH en H₂O por potenciometría; Materia Orgánica: M.O. por Walkey y Black; Nitrógeno total: N por Kjeldahl; Fósforo asimilable: P asimilable por Bray II; Calcio, Magnesio y Potasio: Ca, Mg y K respectivamente, por el método de Shachabel.

Localidad	PH	M. O. (%)	N. Total (%)	P. asimilable (ppm)	P. Total (ppm)	Ca cmol kg ⁻¹	Mg cmol kg ⁻¹	K cmol kg ⁻¹
San José	6.2	2.2	0.18	289	-	13.3	1.5	0.7
Bainoa	5.5	2.9	0.20	3.7	461	5.5	4.1	0.22

Tabla 2. Productividad de las plantas y porcentajes de colonización micorrízica en la cosecha. Localidad de San José (14 semanas). C: Control no inoculado, presencia de los hongos MVA nativos y demás microbiota de la comunidad del suelo; F: Fertilizado (150 kg/ha NH₄ NO₃, 50kg/ha SSP (superfosfato simple) y 50 kg/ha KCl); M1: inoculado con *Glomus fasciculatum*; M2 inoculado con *Gl. manihotis*; M2P: inoculado con *Gl. manihotis* y una BSP; No. vainas: Número de vainas por planta; % CM: Porcentaje de Colonización Micorrízica. Cada valor es media de 4 repeticiones. Valores con una letra en común no difieren significativamente. Prueba de Duncan (p<0.05).

Tratamientos	Altura (cm)	No. vainas	Peso Seco Raíces (g)	CM (%)	Rendimiento (granos) (t/ha)
C	30.53 c	31.10 b	7.55 b	46	0.63 c
F	49.48 a	53.08 a	12.79 a	42	1.67 a
M1	35.08 b c	35.15 b	7.64 b	59	0.78 b c
M2	36.56 b	25.85 b	6.91 b	44	0.94 b
M2P	35.00 b c	32.73 b	7.88 b	56	0.72 b c

Tabla 3. Productividad de las plantas y porcentajes de colonización micorrízica en la cosecha. Localidad Bainoa (18 semanas). C: Control no inoculado, presencia de los hongos MVA nativos y demás microbiota de la comunidad del suelo; F: Fertilizado (150 kg/ha NH₄ NO₃, 50kg/ha SSP (superfosfato simple) y 50 kg/ha KCl); M1: inoculado con *Glomus fasciculatum*; M2 inoculado con *Gl. manihotis*; No. vainas: Número de vainas por planta; % CM: Porcentaje de Colonización Micorrízica. Cada valor es media de 4 repeticiones. Valores con una letra en común no difieren significativamente. Prueba de Duncan (p<0.05).

Tratamientos	Altura (cm)	No. de vainas	Peso Seco Raíces (g)	CM (%)	Rendimiento (granos) (t/ha)
C	68.87 b	40.27 b	1.29	65 a	0.92 b
F	81.30 a	50.47 a	1.44	48 b	1.35 a
M1	69.55 b	41.55 b	2.82	71 a	1.36 a
M2	71.82 b	39.67 b	3.45	61 a b	1.27 a

Tabla 4. Respuesta del frijol de soya a la inoculación con MVA en condiciones de campo. Datos de la literatura referentes a la productividad en la cosecha (granos). (Sieverding, 1991)

Cultivo (n=número de ensayos o tratamientos considerados)	VAM tipo de inóculo, cantidad y modo de aplicación.	Respuesta (t/ha)	Referencia
Soya (n=2)	Inóculo de colección (suelo, esporas, micelio, etc.) 10 t/ha estimado (no especificado) en surco bajo la semilla.	0.10 - 0.13	Bagyaraj <i>et al.</i> , 1979
Soya (n=2)	Inóculo de colección (suelo, esporas, micelio, etc.) 11.7 t/ha (90.7 kg/ metro lineal) en surco bajo la semilla.	0.30 - 0.31	Miranda, 1982