

**INTERACCION *RHIZOBIUM*-MICORRIZA SOBRE EL
CRECIMIENTO Y NUTRICION DE *TRIFOLIUM
REPENS*, L. EN SUELO ACIDO. EFECTO DEL
ENCALADO Y DE LA ADICION DE ROCA
FOSFORICA**

Por

D. F. PICCINI (*), R. AZCON, E. J. BEDMAR y J. M. BAREA



PUBLICADO EN

ANALES DE EDAFOLOGIA Y AGROBIOLOGIA
TOMO XLV - NUMEROS 1-2 - MADRID 1986

INTERACCION *RHIZOBIUM*-MICORRIZA SOBRE EL CRECIMIENTO Y NUTRICION DE *TRIFOLIUM REPENS*, L. EN SUELO ACIDO. EFECTO DEL ENCALADO Y DE LA ADICION DE ROCA FOSFORICA

Por

D. F. PICCINI (*), R. AZCON, E. J. BEDMAR y J. M. BAREA

SUMMARY

INTERACTION *RHIZOBIUM*-MYCORRHIZA ON THE NUTRITION AND GROWTH OF *TRIFOLIUM REPENS* IN ACID SOIL. EFFECT OF LIME AND ROCK PHOSPHATE

The dry weight gain, nitrogen fixation and nutrient uptake of clover (*T. repens*) plants in symbiosis with selected *R. trifolii* strains and vesicular-arbuscular mycorrhizas (VAM) and grown in acid soil have been examined under greenhouse conditions. The addition of rock phosphate to the soil significantly ($P \leq 0.05$) increased both plants dry weights and nutrients concentration. Nitrogenase activity, measured as acetylene reduction, was also greater ($P \leq 0.05$) when the soil was added with rock phosphate. No effect could be observed by liming treatment of the soil as compared to the soil without amendment. The best results were always obtained by the combined application of rock phosphate and lime. In all cases the response of the plants to the inoculation with the different microorganisms varied according to the «specific» *Rhizobium-Mycorrhiza* combinations.

INTRODUCCION

Es bien conocido el hecho de que las leguminosas presentan ventaja ecológica respecto a otras especies vegetales debido a la facultad de establecer de forma natural una doble simbiosis con *Rhizobium* y hongos formadores de micorriza vesículo-arbuscular (MVA). Esto es particularmente importante en suelos de baja fertilidad donde tanto el nitrógeno como el fósforo son elementos limitantes para el adecuado crecimiento vegetal, pero que pueden ser suministrados a la planta por medio de las simbiosis mencionadas (Barea y Azcón-Aguilar, 1983).

(*) Dirección actual: Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Huanuco, Perú.

La actividad nitrogenasa se determinó mediante la técnica de la reducción del acetileno a etileno descrita por Hardy *et al.* (1968), y la formación de micorrizas, de acuerdo con la técnica de Phillips y Hayman (1970).

El peso seco de las plantas y el contenido en nutrientes de las mismas se realizó después de haber sido secadas a 60° C durante 48 h. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza para comprobar la significación estadística de los tratamientos empleados (5 repeticiones/tratamiento).

RESULTADOS

La Tabla I resume el efecto de los diversos tratamientos sobre el crecimiento de trébol blanco. La adición de roca fosfórica incrementó significativamente ($p \leq 0.05$) el peso seco de la parte aérea de las plantas inoculadas con cualquier combinación de los microorganismos estudiados. Un efecto similar sobre el crecimiento de las plantas se observó después del tratamiento conjunto de roca fosfórica y encalado del suelo ($p \leq 0.05$). Por el contrario, el encalado, por sí solo, no produjo ningún efecto en comparación con las plantas testigo.

TABLA I

Peso seco de la parte aérea de plantas de trébol blanco (*T. repens*) inoculado con hongo VAM y *R. trifolii* en un suelo ácido (T), adicionado con roca fosfórica (PR), encalado (C) y tratado con roca fosfórica y cal (PR + C)

Suelo	Peso seco (mg)			
	<i>Glomus sp.</i>		<i>G. fasciculatus</i>	
	<i>R. trifolii</i>			
	162X95	148NB	162X95	148NB
T	38 a	62 ab	44 a	46 a
PR	78 ab	102 b	114 b	74 ab
C	30 a	44 a	38 a	32 a
PR + C	98 b	118 b	98 b	68 ab

Los resultados seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$), según el test de Duncan.

En la Tabla 2 se presentan los resultados correspondientes a la actividad nitrogenasa de *Trifolium repens* inoculado con *R. trifolii*, en relación con los distintos tratamientos. El encalado del suelo no afectó la actividad fijadora de nitrógeno. Sin embargo, tanto la aplicación de roca fosfórica como el tratamiento combinado de los dos anteriores aumentaron de forma significativa ($p \leq 0.05$) tal actividad, sobre todo en plantas micorrizadas con *Glomus* sp.

TABLA 2

Actividad nitrogenasa de raíces noduladas de plantas de trébol blanco (*T. repens*) inoculado con hongo VAM y *R. trifolii* en un suelo ácido (T), adicionado con roca fosfórica (PR), encalado (C) y tratado con roca fosfórica y cal (PR + C)

Suelo	Actividad nitrogenasa (nano moles C ₂ H ₄ /maceta.hora)			
	<i>Glomus</i> sp.		<i>G. fasciculatus</i>	
	<i>R. trifolii</i>			
	162X95	148NB	162X95	148NB
T	19 a	20 a	18 a	20 a
PR	89 b	85 b	151 cb	156 cb
C	6 a	4 a	15 a	13 a
PR + C	188 c	295 d	205 c	136 cb

Los resultados seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$), según el test de Duncan.

La concentración de nutrientes (N, P, K, Ca y Mg) de las plantas crecidas en presencia de los diferentes tratamientos se detalla en la Tabla 3. En ella se puede observar que la adición de roca fosfórica mejoró considerablemente la absorción de todos los nutrientes, mientras que el encalado no es efectivo. En el caso de la aplicación conjunta (roca fosfórica y cal), las plantas micorrizadas con *Glomus* sp. presentaron valores más elevados de contenido en nutrientes, excepto el K, mientras que las micorrizadas con *G. fasciculatus* no denotaron tal efecto comparando la aplicación conjunta con la adición de sólo roca fosfórica. Es de hacer notar que *Glomus* sp. fue más efectivo en asociación con *R. trifolii* 148NB, mientras que *G. fasciculatus* compatibilizó mejor con *R. trifolii* 162X95.

DISCUSION

Los resultados obtenidos indican que la aplicación de roca fosfórica a un suelo ácido incrementa el peso seco y concentración en nutrientes de plantas de trébol blanco inoculadas con *R. trifolii* y hongos VAM (Tablas

TABLA 3

Contenido en nutrientes de plantas de trébol blanco (*T. repens*) inoculado con hongo VAM y *R. trifolii* en un suelo ácido (T), adicionado con roca fosfórica (PR), encalado (C) y tratado con roca fosfórica y cal (PR + C)

Nutriente	Suelo	Contenido (mg/maceta)			
		<i>Glomus sp.</i>		<i>G. fasciculatus</i>	
		<i>R. trifolii</i>			
		162X95	148NB	162X95	148NB
N	T	0,64	0,94	0,67	0,63
	PR	1,22	1,34	1,81	1,15
	C	0,36	0,62	0,47	0,31
	PR + C	1,77	2,08	1,28	0,95
P	T	0,03	0,04	0,04	0,03
	PR	0,15	0,18	0,20	0,15
	C	0,03	0,03	0,03	0,02
	PR + C	0,17	0,25	0,19	0,13
K	T	0,48	0,78	0,68	0,87
	PR	0,94	2,02	1,04	0,77
	C	0,39	0,45	0,39	0,36
	PR + C	0,54	0,76	0,55	0,45
Ca	T	0,68	1,11	0,76	0,74
	PR	2,34	3,10	3,42	2,07
	C	0,60	0,91	0,79	0,70
	PR + C	3,53	3,92	3,57	2,34
Mg	T	0,17	0,28	0,22	0,24
	PR	0,51	0,65	0,74	0,47
	C	0,15	0,23	0,18	0,15
	PR + C	0,69	0,83	0,72	0,46

1 y 3). De aquí, que sea posible utilizar la roca fosfórica como fertilizante fosforado en condiciones de suelo ácido con bajo contenido en fósforo asimilable, lo que concuerda con los estudios realizados por Barnes y Kamprath (1975) y Jue y Kang (1979). Este hecho se justifica admitiendo que la acidez natural del suelo es capaz de solubilizar la roca fosfórica liberando del suelo iones PO_4^- que pueden ser asimilados por las plantas.

Aunque el encalado por sí solo no afectó ni el crecimiento y nutrición de las plantas (Tablas 1 y 3) ni la fijación de nitrógeno (Tabla 2), sí que alteró significativamente estos parámetros cuando se aplicó conjuntamente con la roca fosfórica (Tablas 1, 2 y 3). Es obvio que la explicación de este fenómeno se debe al efecto que el Ca ejerce sobre la nodulación y la actividad nitrogenasa (Evans y Russell, 1971).

Es interesante destacar la afinidad que se observa en cada doble simbiosis *Rhizobium*-Micorriza. El hecho de que unas combinaciones entre ambos microorganismos fueron más efectivas que otras, nos indica la existencia de cierta especificidad dentro de los mecanismos que gobiernan las relaciones microbianas, al mismo tiempo que expresan la necesidad de seleccionar las asociaciones más eficaces con fines prácticos. Estos resultados confirman las ideas en este sentido que recientemente ha revisado Hayman (1984).

RESUMEN

Se ha estudiado en condiciones de invernadero el crecimiento, fijación de nitrógeno y absorción de nutrientes de plantas de trébol blanco (*T. repens*) en simbiosis con *R. trifolii* y micorrizas vesículo-arbusculares, crecidas en un suelo ácido.

La adición de roca fosfórica al suelo incrementó significativamente ($P \leq 0.05$) el crecimiento y nutrición de las plantas de trébol. Igualmente, la actividad nitrogenasa, medida como reducción del acetileno fue mayor ($P < 0.05$) cuando al suelo se adicionó roca fosfórica. El encalado no produjo ningún efecto sobre los parámetros mencionados en comparación con las plantas crecidas en el suelo sin previo tratamiento. Los mejores resultados se obtuvieron cuando el suelo fue sometido al tratamiento combinado de encalado y adición de roca fosfórica.

En todos los casos, la respuesta de las plantas en la inoculación con los diferentes microorganismos empleados varió según las combinaciones «específicas» que se establecieron entre las distintas razas de *Rhizobium* y hongos VAM ensayados.

*Departamento de Microbiología, Estación Experimental del Zaidín. C.S.I.C.
Profesor Alabareda, 1, Granada.*

AGRADECIMIENTOS

CAICYT programa n.º 1764/82 y UNESCO.

BIBLIOGRAFIA

- ABBOTT, L. K. and ROBSON, A. D. (1977): Growth stimulation of subterranean clover with VAM. *Australian Journal of Agricultural Research*: 23, 639-649.
- ALEXANDER, M. (1977): Introduction of soil microbiology. Wiley y Sons. New York, p. 467.
- ALLEY, M. M. (1981): Short-term soil chemical and crop yield responses to limestone applications. *Agronomy Journal*: 73, 687-689.
- BACHE, B. W. (1980): In: Effects of acid precipitation on terrestrial ecosystems (T.C. Hutchinson and M. Havas, ed.) 173-182, Plenum, New York.
- BAREA, J. M. and AZCON-AGUILAR, C. (1983): Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. *Adv. in Agronomy*, 36, 1-56.
- BARNES, J. S. and KAMPRATH, E. J. (1975): *Commun. Soil Science Plant Anal. N. C. Agric. Stn. Tech. Bull.* 229.
- HARDY, R. W. F.; HOLSTEN, R. D.; JACKSON, E. K. and BURNS, R. C. (1968): The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiol.*, 43, 1.185-1.207.
- ENGELSTAD, O. P.; JUGSUJINDA, A.; DE DATTA, S. K. (1974): Response by flooded rice to phosphate rocks varying in citrate solubility. *Soil Science Soc. Am. Proc.* 28, 524-529.
- EVANS, H. J. and RUSSELL, S. A. (1971): Physiological chemistry of symbiotic nitrogen fixation by legumes. In: the chemistry and biochemistry of nitrogen fixation. Ed. J. R. Postgate, pp. 191-244. Plenum, New York.
- HARDY, R. W. F. and BURNS, R. C. (1968): Biological nitrogen fixation. *Annu. Rev. Biochem.* 37, 331-358.
- HAYMAN, D. S. (1984): Methods for evaluating and manipulating vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: *Microbiological methods for Environmental Biotechnology*. Soc. for Ap. Bac. Ed. J. M. Grainger and J. M. Lynch. Academic Press. New York, pp. 95-117.
- HAYNES, R. J. and LUDECKE, T. E. (1981): Yield, root morphology and chemical composition of two pasture legumes as affected by lime and phosphorus applications to an acid soil. *Plant and Soil*, 62, 241-254.
- JUE, A. S. R. and KANG, B. T. (1979): *Commun. Soil Sci. Plant Anal*, 10, 993-1003.
- RHASAWNEH, F. E. and DOLL, E. C. (1978): The use of phosphate rock for direct application to soils. *Adv. Agron*, 30, 159-206.
- MOSSE, B. (1977): Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. Response of *Sihylosanthes* and maize to inoculation in unsterile soils. *New Phytol*, 78, 277-288.
- PHILLIPS, J. M. and HAYMAN, D. S. (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.
- POWELL, C. L. (1977): Mycorrhizas in hill country soils. II. Effects of several mycorrhizal fungi on clover growth in sterile soils. *Nature*, London, 264, 436-448.
- SANCHEZ, P. A. and UEHARA, G. (1980): In: The role of phosphorus in agriculture (F. E. Khasawneh, E. C., Sample and E. J. Kamprath, eds.), pp. 263-310. *Am. Soc. Agron. Madison, Wisconsin*.