

INTERACCIONES ENTRE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS VESICULO-ARBUSCULARES (VAM) Y BRADYRHIZOBIUM; SU EFECTO EN EL CRECIMIENTO DE LA SOJA (GLICINE MAX).

Marta N. Cabello (1)
Instituto de Botánica Spegazzini,
53 N° 477, 1900, La Plata Argentina.

Palabras claves: *Bradyrhizobium japonicum*, *Glomus epigaeus*, VAM nativas, soya.

Key words: *Bradyrhizobium japonicum*, *Glomus epigaeus*, indigenous VAM, soybean.

RESUMEN

Se estudió la interacción entre hongos VAM nativos de suelos agrícolas de la provincia de Buenos Aires (Argentina), *Glomus epigaeus* y *Bradyrhizobium japonicum* en plantas de soja. La inoculación tripartita: VAM nativas, *G. epigaeus* y *B. japonicum* produjeron plantas más vigorosas, con mayor número de nódulos y de mayor tamaño en relación a plantas no inoculadas. El contenido de Nitrógeno en la porción aérea de las plantas aumentó un 102% y el del Fósforo un 233% en plantas con inoculación tripartita, en relación al testigo no inoculado.

INTRODUCCION

La soja (*Glycine max* (L.) Merr.) es una leguminosa que brindó y brinda al hombre una gran cantidad y variedad de usos. En su lugar de origen, China, se le conoce desde aproximadamente el año 2838 A. C. y es en este país y en Japón donde constituye la base de la alimentación proteica.

La importancia dada a este vegetal por los pueblos orientales ha sido ratificada en todo el mundo, siendo en nuestro país la difusión de este cultivo relativamente reciente, sin embargo su expansión ha sido muy grande pasando de 350.000 hectáreas sembradas en 1975 a \$100.000 en 1989/90. (Bolsa de cereales de Buenos Aires).

Una de las principales ventajas de la incorporación de la soja a la agricultura está basada en la propiedad de fijar nitrógeno atmosférico que la planta realiza merced a su asociación simbiótica con *Bradyrhizobium japonicum* (Saumell 1977).

SUMMARY

[Interactions between VAM FUNGI and *Bradyrhizobium* and their effect on growth of soybean (*Glycine max*)]

The interaction between indigenous vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (VAM) recovered from soils in Buenos Aires Province (Argentina), *Glomus epigaeus* produced in pots and *Bradyrhizobium japonicum* on growth of soybean was investigated.

Inoculation with tripartite system: indigenous VAM, *G. epigaeus* and *B. japonicum* was highly effective in improving the growth of soybean plants and increased the number and size of nodules in relation to non inoculated plants.

The N and P content also was considerably higher when plants were inoculated with the tripartite system (102% and 233% respectively).

Sin embargo, para lograr una nodulación satisfactoria y una adecuada fijación de nitrógeno se necesita un adecuado suplemento de fósforo al suelo (Demeterio et al. 1972).

Las investigaciones realizadas en estos últimos años confirman la mejora en el crecimiento de las plantas cuando están micorrizadas; ésto se debe fundamentalmente a la mayor captación de fósforo del suelo especialmente en suelos donde este elemento es deficiente (Gerdemann, 1975).

Ross y Harper (1970) sugirieron que las VAM incrementan la efectividad de *Bradyrhizobium* en la nodulación y fijación de nitrógeno al encontrar que plantas micorrizadas contenían mayor cantidad de nitrógeno que las no micorrizadas.

La inoculación de plantas con VAM y *Bradyrhizobium* posee efectos sinérgicos beneficiosos en su crecimiento (Bagyaraj et al. 1979; Daft et al. 1976; Mathew et al. 1989; Mosse, 1977).

Hayman (1986) ha enfatizado que se deben tomar en cuenta en la dinámica total del sistema, estudios del comportamiento de leguminosas fijadoras de nitrógeno interactuando con micorrizas para poder, de este modo, alcanzar aplicaciones prácticas.

Como consecuencia de lo anteriormente expuesto, viendo la importancia que este cultivo posee en la alimentación de la humanidad y considerando el explosivo aumento de la superficie sembrada en nuestro país, con ayuda de técnicas racionales para bien de la economía nacional, es que se planteó esta investigación. El objetivo de la misma es evaluar la respuesta de crecimiento de la soja a la inoculación con hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares nativas de suelos agrícolas de la provincia de Buenos Aires (Argentina), *Glomus epigaeus* producido en condiciones de invernadero y su interacción con *Bradyrhizobium japonicum*.

La presencia de VAM nativas de nuestros suelos en esta investigación, responde a la inquietud de saber si son realmente efectivas en la colonización de raíces, con lo cual ayudarían a las plantas a una mejor captación de nutrientes; probar, además, si su eficiencia puede ser aumentada con la introducción exógena de VAM producidas comercialmente.

MATERIAL Y METODOS

El experimento se desarrolló en macetas de 3.000 cc de capacidad. Se usó como soporte para el crecimiento de las plantas, suelo proveniente de dunas de la costa atlántica argentina el cual contenía 4 ppm de fósforo asimilable y con un pH de 6.5. Este suelo se tinalizó por 3 períodos consecutivos para eliminar los microorganismos presentes en él como así mismo la posible presencia de VAM.

Con la finalidad de probar la efectividad de hongos VAM nativos de nuestros suelos, para colonizar raíces de soja, se utilizó como fuente de inóculo nativo un suelo proveniente de un campo ubicado en el Km 23 de la ruta 226 en el Partido de General Pueyrredón de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

El análisis del suelo dió los siguientes resultados: color pardo muy oscuro (10 YR 2/2) en húmedo, textura franco limosa (arcilla 18.7%, limo 51%, arena 30.3%); pH (pasta) 5.65; C orgánico 3.15%; N total 0.25%; P 25.8 ppm.

En el tratamiento con VAM nativas se utilizaron 50 gr de este suelo por maceta, el cual contenía alrededor de 50 clamidosporas además de fragmentos de raíces colonizadoras con VAM autóctonas del mismo.

El inóculo de VAM de laboratorio consistió en 10 gr de suelo rizosférico de plantas de trébol rojo (*Trifolium repens* L.) las que habían crecido en macetas con un aislamiento de *G.epigaeus* Daniels & Trappe, el cual contenía 50 clamidosporas y fragmentos de raíces colonizadas.

El inóculo de *B. japonicum* cepa E-109 consistió en caldo líquido con $1,63 \times 10^{10}$ bacterias por gramo.

Se realizaron 4 réplicas de los siguientes tratamientos:

Tratamiento 1: plantas control no inoculadas (testi-

go); Tratamiento 2: plantas inoculadas con VAM nativas. Tratamiento 3: plantas inoculadas con *G.epigaeus*. Tratamiento 4: plantas inoculadas con VAM nativas + *japonicum*; Tratamiento 5: plantas inoculadas con VAM nativas + *G.epigaeus*; Tratamiento 6: plantas inoculadas con VAM nativas + *G.epigaeus* + *B. japonicum*; Tratamiento 7: plantas inoculadas con *B.japonicum*.

Se sembraron semillas de soja (*Glicine max* L. cv *Asgrow 5308*), esterilizadas superficialmente, a razón de 10 por maceta. La esterilización superficial consistió en sumergir las semillas en una solución de hipoclorito de sodio durante 10 minutos, lavándose luego en 10 cambios sucesivos de agua destilada estéril.

Las plantas crecieron en un rango de temperatura que osciló entre 19 y 25°C, con un ciclo luz/oscuridad de 14/10 hs. El riego fue efectuado por un sistema de capilaridad.

A los 60 días se cosecharon las plantas y se midieron los siguientes parámetros:

a) Porcentaje de longitud de raíz colonizada. Un gramo de raíces fué clarificado y teñido de acuerdo a técnica de Phillips y Hayman (1970). La estimación de longitud de raíz colonizada se hizo de acuerdo con el método propuesto por Giovannetti y Mosse (1980).

b) Peso seco de la región aérea de las plantas.

c) Número de vainas por plantas.

d) Número de nódulos por plantas.

e) Peso seco de los nódulos por planta.

f) Porcentaje de nitrógeno y

g) Porcentaje de fósforo de la región aérea de las plantas.

Los resultados fueron evaluados estadísticamente de acuerdo al test de rango múltiple de Duncan.

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los resultados de los diferentes tratamientos evaluados en este estudio.

Las plantas de los tratamientos 1 y 7 no mostraron raíces infectadas por hongos VAM, esto es así porque en estos 2 tratamientos no se colocó inóculo VAM. Los porcentajes más bajos de infección se produjeron en los tratamientos 2 y 3 en los que se usó VAM nativas y *G.epigaeus* como única fuente de inóculo, además no se observaron diferencias significativas entre ellos. La combinación de VAM nativas y *Bradyrhizobium* (trat.4); VAM nativas y *G.epigaeus* (trat. 5) y VAM nativas, *G. epigaeus* y *Bradyrhizobium* (trat. 6), produjeron un aumento en la longitud de raíz infectada el cual es significativo cuando se lo compara con los tratamientos 2 y 3; sin embargo las diferencias no son estadísticamente significativas entre ellos.

La inoculación tripartita (trat.6), produjo plantas de mayor tamaño cuyo peso seco fué un 280% mayor al de las plantas testigo y un 68% mayor que el promedio de las plantas bajo tratamiento 4 o 5.

Las plantas que recibieron a *Bradyrhizobium* como único inóculo también presentaron diferencias significa-

tivas con las testigo no inoculadas o las solamente inoculadas con VAM nativas o con *G. epigaeus*, en lo que a peso seco se refiere.

La producción de vainas fue mayor en el tratamiento con triple inoculación.

La nodulación, únicamente presente cuando las plantas recibieron *Bradyrhizobium*, fue más efectiva en cuanto a número de nódulos y tamaño de los mismos (basándonos en el peso seco de todos los nódulos de una planta) en el Tr. 6, discutible pues Tr. 4 fué significativamente menor y entre Tr. 4 y Tr. 7 no hubo diferencia significativa.

El porcentaje de N y P de la región aérea de las plantas en el tratamiento tripartito fué un 102% y un 233% respectivamente mayor que en el testigo.

Comparando las inoculaciones duales VAM nativas y *Bradyrhizobium* (Tr. 4) o VAM nativas y *G. epigaeus* (Tr. 5), observamos que el contenido de N y de P, no fué significativamente diferente.

En la foto podemos observar la diferencia de tamaño de las plantas. A: testigo sin inoculación (Tr. 1); B: planta con inoculación con VAM nativas (Tr. 2) y C: planta con inoculación tripartita, *G. epigaeus*, VAM nativas y *Bradyrhizobium* (Tr. 6).

DISCUSION

En numerosos ensayos se ha comprobado que las VAM mejoran el crecimiento de las plantas tanto en el laboratorio como en condiciones de campo (Gerdemann, 1968; Mosse, 1973; Tinker, 1975), mejorando la absorción de nutrientes del suelo por parte de la raíz especialmente del fósforo.

El papel más destacado que le cabe a las micorrizas, es la absorción de los elementos menos móviles y solubles del suelo entre los que se encuentra el fósforo; este elemento luego es transferido a la planta hospedadora.

Las micorrizas pueden ayudar además, en la nodulación y fijación del nitrógeno en el caso particular de las leguminosas. Esto ha sido comprobado en (*Glicine max*, por Bagyaraj et al. (1979); Ross y Harper (1970); Yoshitaka y Yamamoto (1986). En *Medicago sativa* por Aguilar et al. (1979); Barea et al. (1983). En *Vigna radiata* por Mathiew y Johri (1989).

Este estudio reafirma lo demostrado en las investigaciones citadas anteriormente. Demuestra, así mismo, que si bien en el suelo existe una adecuada dotación natural de hongos formadores de micorrizas, el aporte exógeno de VAM mejora sensiblemente la nodulación, aumentando el contenido de nitrógeno en la planta y mejorando la captación de fósforo del suelo, produciendo en consecuencia, plantas más vigorosas.

Con la producción comercial de especies fúngicas formadoras de micorrizas vesículo-arbusculares para su posterior inoculación a campo con las diferentes especies de *Bradyrhizobium* y *Rhizobium*, en el caso de tratarse de leguminosas y ésto a su vez asistido por las VAM autóctonas que existen en todos los suelos, podría llegarse a mayores rendimientos en las cosechas sobre todo en suelos donde existe marcada deficiencia de fósforo, sin necesidad de recurrir a fertilización química exógena.

CONCLUSIONES

El óptimo de crecimiento de la soja, estimado como peso seco de la región aérea, producción de vainas y concentración de nitrógeno y fósforo se consigue con la combinación de los 3 tipos de inóculo probados: VAM nativas del suelo; *G. epigaeus* y *B. japonicum*. Sin embargo, la presencia de VAM nativas, también efectiviza el proceso cuando lo comparamos en plantas cuya única fuente de inóculo es *B. japonicum*.

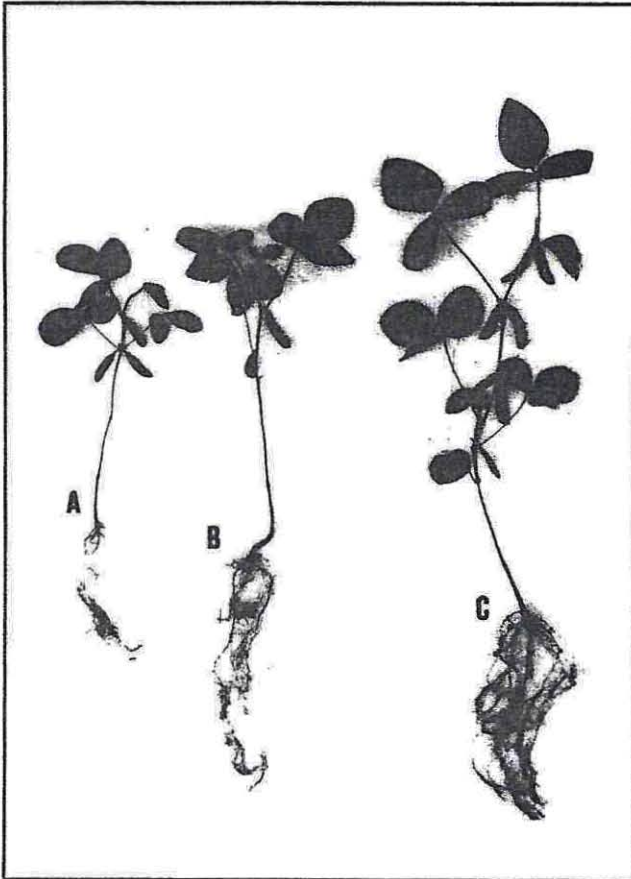
La colonización de raíces es más efectiva por parte de las VAM cuando éstas interactúan con *Bradyrhizobium*.

TABLA 1

Efecto de la inoculación con VAM y *B. japonicum*, en los diferentes parámetros de crecimiento de la soja. Cada valor es el promedio de 8 repeticiones. Los valores seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo al test de rango múltiple de Duncan.

Tratamiento	Infección (%)	Peso Seco Región área g.	Nº Vainas Plantas	Nº Nódulos Plantas	Peso Seco Nódulos/planta g.	% N de la Región	% P área
1. Testigo	0a	1,12 a	3 a	0 a	0 a	1,53 a	0,06 a
2. VAM n	70 b	1,83 a	4 a	0 a	0 a	1,74 a	0,06 a
3. GE	72 b	1,86 a	4 a	0 a	0 a	1,83 a	0,08 a
4. VAMn + B	88 c	2,40 b	5 b	32 c	0,15 b	2,38 b	0,10 b
5. VAMn + GE	90 c	2,67 b	6 b	0 a	0 a	2,18 b	0,12 b
6. VAMn + GE + B	93 c	4,26 c	8 c	39 c	0,47 c	3,10 c	0,20 c
7. B	0 a	2,35 b	4 a	25 b	0,09 b	1,97 a	0,09 a

VAMn = Micorrizas vesículo-arbusculares nativas GE = *Glomus epigaeus* B = *Bradyrhizobium*



AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Ing. Jorge A. Ringuet de la Cátedra de Química Agrícola (Fitoquímica) de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad de La Plata por el análisis del contenido de N y P de las plantas. Al Sr. Horacio A. Spinedi por la fotografía y a la Dra. Angélica M. Arambarri por la lectura crítica del manuscrito y el apoyo brindado en la realización de este trabajo.

Foto: Plantas de Soja no inoculadas e inoculadas con VAM nativas, *Glomus epigaeus* y *Bradyrhizobium japonicum*. a: Planta sin inocular (tratamiento 1) b: Planta inoculada con VAM nativas (Tratamiento 2) c: Planta inoculada con VAM nativas + *G. epigaeus* + *B. japonicum* (Tratamiento 6).

REFERENCIAS

- 1.-Agullar, A.G.; Azcon, R. & Barea, J.M. (1979). Endomycorrhizal fungi and *Rhizobium* as biological fertilizers for *Medicago sativa* in normal cultivation. *Nature*, London, 279: 325-327.
- 2.-Bagyaraj, D.J.; Manjunath & Pafll (1979). Interactions between a vesicular-arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* and their effect on soy-bean in the field. *New Phytol.* 82 (1): 141-146.
- 3.-Barea, J.M.; Azcon-Aguillar & Azcon R. (1983). Efecto de la interacción de fertilizantes solubles y P y micorrizas sobre la modulación, micorrización, crecimiento y nutrición de la alfalfa *Medicago sativa* L.). *Ciencia del suelo* 1 (1): 39-43.
- 4.-Daft, M.J. & El-Giaimi (1976). Studies on nodulated and mycorrhizal peanuts. *Annals of applied Biology* 83: 273.
- 5.-Demetrio, J.L.; Ellis, R. Jr. & Paulsen G.M. (1972). Nodulation and nitrogen fixation by two soybean varieties as affected by phosphorus and zinc nutrition. *Agronomy Journal* 64: 566.
- 6.-Gerdemann, J.W. (1968). Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Rev. Phytopathol.* 6: 397-418.
- 7.-_____ (1975). Vesicular-arbuscular mycorrhizae. En *Development and function of roots* (Ed. Torrey J.G. & D.T. Clarkson) pp. 575-591. Academic Press, London, New York.
- 8.-Giovannetti, M. & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection roots. *New Phytol.* 84: 489-500.
- 9.-Hayman, D.S. (1986). Mycorrhizae of nitrogen fixing legume *Mircaea*. *Jour.* 2: 121-145.
- 10.-Mathew, J. & Johri, B. N. (1989). Effect of indigenous and introduced VAM fungi on growth of mungbean. *Mycol. Res.* 92 (4) 491-493.
- 11.-Mosse, B. (1973). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additional phosphate. *New Phytol.* 72: 127-136.
- 12.-Mosse, B. (1977). The role of mycorrhiza in legume nutrition on marginal soil. En: *Exploiting the legume-rhizobium symbiosis Tropical Agriculture* (Ed. Vincent, J.M.; Whitney & J. Bose) pp: 275-292. College of Tropical Agriculture, Univ. Hawaii, U.S.A. Miscellaneous Publ. N° 145.
- 13.-Phillips, J.M. & Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and VA mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55 (1): 158-161.
- 14.-Ross, J.P. & Harper, J.H. (1970). Effect of *Endogone* mycorrhiza on soybean yield. *Phytopathol* 60: 1552-1556.
- 15.-Saumell, H. (1977). Soja, información técnica para su mejor conocimiento y cultivo. 143pp. Ed. Hemisferio Sur, Bs. As.
- 16.-Tinker, P. B. (1975). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. *Symposium of the Society of Experimental Biology*, 29: 399-406.
- 17.-Yoshimataka, K. & Yamamoto (1986). Increase in the formation and N₂ fixation of soybean (*Glycine max* L.) nodules by VAM. *Plant & Cell Physiology* 27: 399-406.