

TOLERANCIA DE VARIEDADES DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) AL pH ACIDO Y AL ALUMINIO Y EFECTO DE ESTOS FACTORES SOBRE LA FIJACION DE NITROGENO

Carmen Rosa Gómez Laverde

Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Santafé de Bogotá, Colombia.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*, *Rhizobium*, acidity, aluminium.

RESUMEN

Se evaluó la tolerancia de cinco variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y de tres cepas de *Rhizobium* al pH bajo y a 3, 6 y 9 ppm de Al, como $AlCl_3 \cdot 6H_2O$, en el medio de crecimiento. Se evaluó también la eficiencia de la fijación de N_2 en las variedades tolerantes a la acidez inoculadas con *Rhizobium*, en soluciones de pH 4.8, 5.5 ó 6 con o sin aluminio.

Con base en parámetros de crecimiento de las plantas, las variedades Radical y Andino se mostraron tolerantes a pH 4.5 y a 9 ppm de Al mientras que Diacol Catío e ICA Pijao lo fueron a pH 4.5 y a 6 ppm de Al. Las variedades más tolerantes al Al presentaron porcentaje de P en parte aérea más bajo que la variedad sensible. El Al no tuvo efecto negativo sobre la absorción de Ca. Las cepas CIAT 899, CIAT 144 y CIAT 2 toleraron pH 4.5 y 6 ppm de Al. Las plantas inoculadas y cultivadas a pH 4.8 mostraron poco crecimiento; el aluminio hizo disminuir el peso seco de parte aérea, el N-total y especialmente el peso seco de nódulos; sin Al, las variedades Radical y Andino inoculadas con CIAT 899 y CIAT 144, incrementaron en más del 97% el peso seco de plantas y el N-total en relación con los testigos. A pH 6 y en ausencia de Al la nodulación y la fijación de N_2 se incrementaron marcadamente. A los valores de pH estudiados la fijación de N_2 no fue suficiente para producir rendimientos máximos.

ABSTRACT

The tolerance of five native varieties of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and three strains of *Rhizobium* at pH 4.5 and either 3, 6 or 9 ppm of Al in the growing medium was evaluated. Nitrogen fixation efficiency in varieties presenting tolerance to acidity inoculated with *Rhizobium* was evaluated in nutrient solution of pH 4.8 or 6 with or without Al.

Based on growing parameters, the Radical and Andino varieties were tolerant to pH 4.5 and 9 ppm of Al, while the Diacol Catio and ICA Pijao varieties were to pH 4.5 and 6 ppm of Al. Shoot phosphorous concentration of the varieties tolerants to Al was lower than in

sensitive variety. Ca concentration in shoots was unaffected by Al in the nutrient solution. The strains CIAT 899, CIAT 144 and CIAT 2 showed good tolerance at pH 4.5 and 6 ppm of Al. Plants inoculated and cultivated at pH 4.8 presented reduced growth and the Al caused a reduction on the dry matter of shoots, total-N in shoots and especially in dry matter of nodules. In the absence of Al, Radical and Andino varieties inoculated with the CIAT 899 and CIAT 144 strains showed an increase of more than 97% in dry matter and total-N in shoots when compared to controls. Nodulation and N_2 fixation was considerably increased at pH 6 and absence of Al. N_2 fixation at pH values tested (4.8, 5.5, 6) was not sufficient to produce maximal yields.

INTRODUCCION

El frijol en condiciones muy controladas puede nodular y fijar N_2 a ratas similares a las de otras leguminosas (1) pero, el cultivo de campo es considerado de poca habilidad en este proceso (2, 3). La capacidad de fijación de N_2 varía entre genotipos siendo mayor en aquellos menos precoces y de hábito de crecimiento IV (3, 4). La inoculación del frijol con cepas de *Rhizobium*, bajo condiciones de campo, ha mostrado resultados diversos y con frecuencia no ha habido respuesta (5, 6); la falta de adaptación de uno o de los dos simbioses al estrés ambiental puede ser una de las causas de tales resultados. La acidez del suelo, con todos sus componentes (bajo pH, deficiencia de fósforo y de calcio, toxicidad de aluminio y de manganeso) es factor muy importante entre los que restringen la fijación de N_2 en frijol y en otras leguminosas (1, 7, 8) pues afecta el crecimiento de las plantas, la sobrevivencia de las cepas de *Rhizobium* en el suelo y todas las etapas de la simbiosis (9, 10). Se conoce que existe diferencia en la tolerancia a la acidez tanto entre cepas de *Rhizobium* (11, 12) como entre variedades de frijol (13, 14, 15). Vargas y Graham (10) han observado que cuando la variedad de frijol y la cepa de *Rhizobium* son intolerantes a pH 4.5, la nodulación y el desarrollo de la planta son más afectados por la acidez que cuando variedad y/o cepa son tolerantes a ese pH.

Los objetivos de este trabajo fueron: evaluar la tolerancia de algunas variedades nativas de frijol a dosis crecientes de aluminio en la solución nutritiva de pH bajo; observar la relación entre la concentración de fósforo, calcio y aluminio en las plantas y la tolerancia de estas al aluminio; evaluar la eficiencia de la fijación de N_2 en variedades de frijol tolerantes al aluminio y al medio ácido, inoculadas con cepas de *Rhizobium* también tolerantes a esos factores.

MATERIALES Y METODOS

Ensayo 1. Se realizó en invernadero a temperatura promedio de 18°C. Se utilizaron cinco variedades de frijol: ICA Citará (arbustivo, de clima medio), Radical (trepador, de clima frío moderado), Andino (arbustivo, de clima frío), Diacol Catío

(arbustivo, de clima medio) e ICA Pijao (arbustivo, de clima medio). Se usaron jarras de Leonard con arena cuarcítica lavada y la solución nutritiva basal descrita por Franco y Munns (16) pero con KH_2PO_4 en sólo 60 μM y con NH_4NO_3 1.25 mM. Se adicionó Al, como $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 0, 3, 6 y 9 ppm y se fijaron dos valores iniciales de pH 4.5 y 5.0. Las soluciones nutritivas se cambiaron cada semana. En cada jarra se sembraron dos semillas previamente desinfectadas (16) y pregerminadas, a la semana se dejó una sola semilla. Después de 50 días de crecimiento, en período de floración, se cortó la parte aérea, se retiraron las raíces de la arena y se midió la longitud de la raíz principal. Luego, se determinó el peso seco de las raíces y de la parte aérea y en esta última fracción se estimaron las concentraciones de fósforo (método de Bray modificado (18)), calcio (método de absorción atómica), y aluminio (método colorimétrico del violeta de pirocatecol (19)). El diseño fue completamente al azar con arreglo factorial y tres replicaciones. Los factores fueron variedad, pH y concentración de aluminio.

Ensayo 2. Se utilizaron tres cepas de *Rhizobium* que nodulan frijol, CIAT 899, CIAT 144 y CIAT 2. De ellas se conocía por ensayo previo (Ballesteros, sin publicar), su efectividad en la fijación de N_2 asociadas con las variedades del ensayo 1, a pH 7. Las dos primeras se mencionan en la literatura como tolerantes a la acidez (11, 17, 20), sobre la CIAT 2 no se conocía esta característica. Para juzgar la tolerancia de estas cepas a la acidez y al Al se siguió el método de crecimiento en cajas de Petri. Se prepararon éstas con el medio de Keyser y Munns con agar (17) y con los siguientes tratamientos: Al 0 ppm, pH 4.5; Al 0 ppm, pH 6; Al 3, 6 o 9 ppm, pH 4.5. Se hicieron suspensiones bacterianas de las tres cepas, a partir de cultivos puros, en medio con levadura-manitol y se incubaron por cinco días a 28°C. De cada suspensión se hicieron diluciones y de la dilución 10^6 se puso 0.2 mL en cada caja. Las cajas se incubaron a 28°C y luego de tres días se contaron las colonias individuales en cada tratamiento. Se hicieron tres replicaciones y se estableció si existían o no diferencias significativas entre tratamientos.

Ensayo 3. Se usaron las variedades más tolerantes a la acidez y al Al según el ensayo 1 y como inoculantes las tres cepas de *Rhizobium* mencionadas en el ensayo 2. Se utilizaron las jarras de Leonard y la solución nutritiva del ensayo 1, sin nitrógeno, a la cual se le ajustó inicialmente el pH en 4.8. Los tratamientos incluyeron: Al 0 y 6 ppm y distintas fuentes de nitrógeno, sin nitrógeno (-N), NH_4NO_3 2.5 mM e inoculación con cada una de las tres cepas de *Rhizobium*. Las jarras ya con la solución se esterilizaron, se sembraron las semillas desinfectadas y pregerminadas, a los cinco días se aplicaron 2 mL de inoculante por cada jarra (suspensión bacteriana con turbidez correspondiente a 10^8 células/mL); a los ocho y a los doce días se hizo un riego con 20 mL de una solución que aportó 0.20 mg de NH_4NO_3 , con el fin de que el cultivo dispusiera de nitrógeno para su crecimiento inicial antes de producirse la nodulación. Las soluciones se cambiaron cada semana y las plantas se dejaron crecer por 48 días. Se cortó la parte aérea, los nódulos se retiraron de las raíces, se contaron y se secaron. En el material seco de la parte aérea se determinó el contenido de nitrógeno por el

método de Kjeldahl (18). El diseño fue completamente al azar con la combinación de los factores variedad, aluminio y fuente de nitrógeno. Se hicieron tres replicaciones.

Ensayo 4. En este ensayo se incluyeron las variedades Radical y Andino y las cepas CIAT 899 y CIAT 144. Se procedió en general como en el ensayo 3 pero con el propósito de atenuar las limitaciones que produce la acidez, se ajustó el pH en 5.5 o 6.0, no se adicionó Al y se duplicó la concentración de fósforo. Las fuentes de nitrógeno fueron: sin nitrógeno, NH_4NO_3 2.5 mM e inoculación con cada una de las cepas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Ensayo 1. Las plantas aunque no raquílicas tuvieron menor crecimiento que aquellas cultivadas a pH 6 y sin Al (ensayo 4). Las raíces no se afectaron severamente por el Al y sólo en el tratamiento con 9 ppm de Al las raíces de plantas de la variedad ICA Citará, presentaron zonas de color café. La tabla 1 recoge los resultados sobre los parámetros de crecimiento evaluados. Se aprecia tendencia a valores mayores de los tres parámetros cuando el pH de la solución fue 5.0. El incremento de 0.5 unidades en el pH inicial sólo tuvo efecto significativo en la longitud de la raíz de la variedad Andino en las dosis 0, 3 y 6 ppm de Al y en la variedad Radical en 9 ppm de Al. El efecto poco marcado del pH pudo estar asociado con el hecho de que a partir de los 20 días después de la siembra, el pH osciló en torno a los valores iniciales en el período entre cambio y cambio de la solución según se comprobó. En relación con el factor aluminio, todas las variedades excepto la ICA Citará, muestran valores máximos en los tres parámetros para el tratamiento con 3 ppm de Al a los dos pH. Este beneficio de la dosis baja de Al se apreció visualmente en la altura de las plantas y ha sido informado por otros autores en cultivos de sorgo y de arroz (20, 21). La acción de las dosis 6 y 9 ppm de Al sobre la longitud de la raíz es diferente según la variedad, en ICA Citará y Diacol Catío los valores son menores que para el testigo (Al 0 ppm) y en Radical e ICA Pijao son mayores que en éste. El peso seco de las raíces y el peso seco de la parte aérea en las variedades Radical y Andino no se deprimen, en relación con el testigo, con 6 y 9 ppm de Al pero sí en las otras variedades. El detrimento en el crecimiento de la raíz ha sido considerado frecuentemente en la clasificación de variedades de plantas respecto a su tolerancia al Al, pero, Malavolta et. al (22) encontraron en sorgo y en frijol que la producción de materia seca total, raíces más parte aérea, da la mejor indicación de tolerancia al Al en experimentos cortos. Estos autores consideran tolerantes al Al las variedades de frijol cuyo peso seco total se incrementa, con relación al control, en presencia de 6 ppm de Al en el sustrato y de tolerancia media aquellas cuya reducción en materia seca total sea menor del 25% por efecto de 6 ppm de Al. En este ensayo, con base en el aspecto y vigor de las plantas, el comportamiento del peso seco aéreo y los cambios en el peso seco total, se identificaron como tolerantes al aluminio las variedades Radical y Andino, de tolerancia media Diacol Catío e ICA Pijao y sensible ICA Citará.

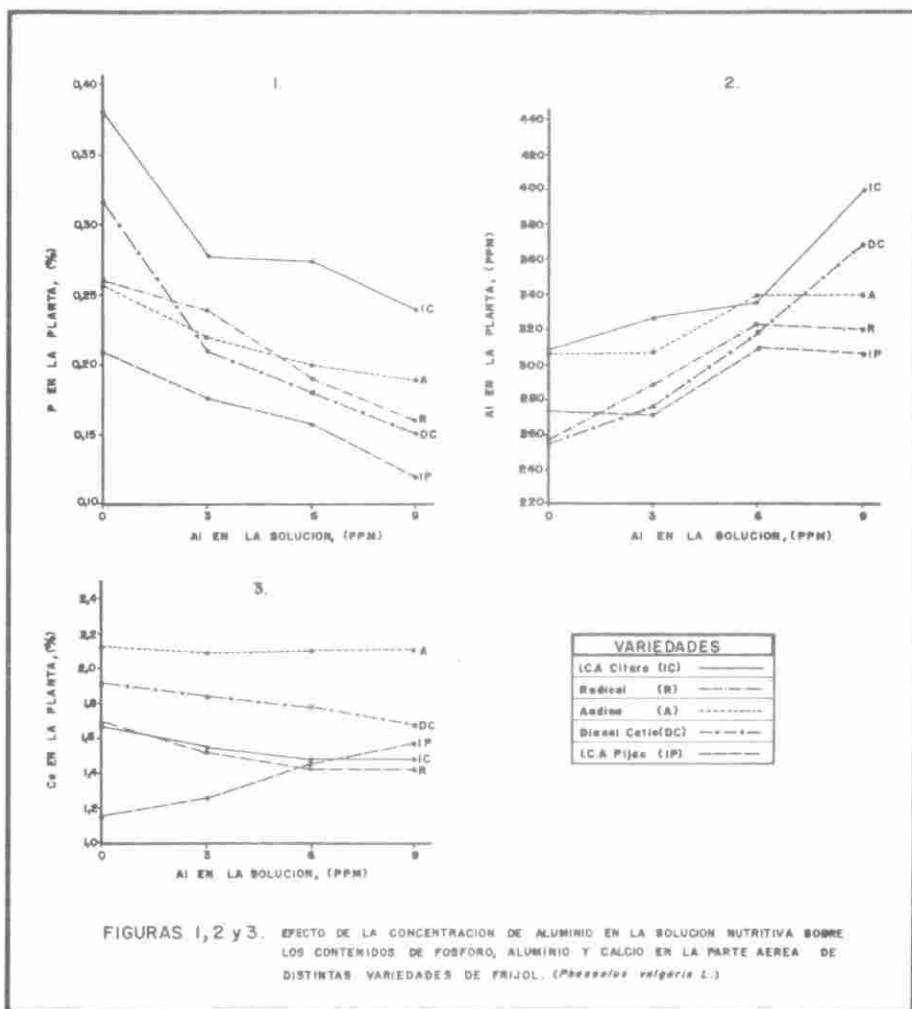
Tabla 1. Variación en la longitud de la raíz principal y en el peso seco de las raíces y de la parte aérea de variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) cuando crecieron en soluciones nutritivas de pH 4.5 y 5.0 con diferentes concentraciones de aluminio.

Variedad	Al ppm	Longitud de la raíz principal cm		Peso seco de las raíces mg/planta		Peso seco de la parte aérea mg/planta		Peso seco total mg/planta (*)
		pH 4.5	pH 5.0	pH 4.5	pH 5.0	pH 4.5	pH 5.0	
ICA Citará	0	30.3 bc	33.2 ab	399 c	450 bc	750 cd	754 cd	1177
	3	28.8 c	31.0 abc	440 bc	500 ab	642 de	760 cd	1171
	6	28.7 c	30.0 bc	343 c	387 bc	610 e	630 e	985
	9	27.6 cd	28.3 cd	343 c	373 c	580 e	601 e	948
Radical	0	23.1 de	24.0 de	356 c	403 bc	450 f	501 f	855
	3	34.7 ab	38.3 a	556 ab	643 a	595 e	840 bc	1317
	6	33.1 ab	33.5 ab	403 bc	500 ab	570 ef	614 e	1043
	9	23.5 de	31.5 abc	436 bc	543 ab	622 e	686 de	1143
Andino	0	19.6 e	29.0 bc	346 c	460 abc	574 e	670 de	1025
	3	19.8 e	32.6 ab	460 abc	501 ab	730 cd	800 bc	1245
	6	20.8 e	28.7 cd	403 bc	503 ab	680 de	810 bed	1198
	9	22.0 e	24.7 de	390 bc	483 ab	720 cd	761 cd	1177
Diacol Catío	0	30.7 abc	33.7 ab	390 bc	480 ab	699 cd	797 bed	1183
	3	32.5 ab	36.8 a	533 ab	576 ab	926 ab	1020 a	1527
	6	28.5 cd	32.1 abc	383 bc	506 ab	670 de	805 bed	1189
	9	27.3 cd	31.0 abc	370 c	460 ab	563 ef	620 e	1006
ICA Pijao	0	29.1 bc	30.6 abc	460 ab	463 ab	772 cd	902 abc	1298
	3	36.1 ab	37.7 a	488 ab	540 ab	910 ab	1040 a	1489
	6	30.7 abc	34.9 ab	360 c	393 bc	690 d	799 bed	1121
	9	31.0 abc	34.1 ab	304 c	416 bc	582 e	691 de	996

Cada valor es el promedio de tres repeticiones.

Valores con la misma letra dentro de una variable no son significativamente diferentes según la prueba de Duncan.

(*) Peso seco total promedio de los obtenidos para los dos valores de pH.



En las figuras 1, 2 y 3 se aprecia la variación de las concentraciones de fósforo, aluminio y calcio en las plantas en respuesta a la concentración de Al en la solución nutritiva. No hubo diferencia significativa entre los resultados encontrados para los dos valores de pH por lo que se representó el promedio de las concentraciones encontradas a los dos pH. El porcentaje de P decrece significativamente a cada incremento del aluminio en la solución pero la reducción es menor en las variedades Radical, Andino e ICA Pijao. A pesar de la baja concentración de fósforo en la solución nutritiva, 60 μM , los porcentajes de este elemento en la parte aérea están dentro de los adecuados, 0.20 a 0.50% (23) cuando el Al está en 0 o 3 ppm pero es deficiente en cuatro variedades, < 0.20%, si el Al está en 6 o 9 ppm. Las variedades más tolerantes al Al mostraron contenidos de P más bajos que la variedad sensible; esto acuerda con lo observado por otros investigadores (24, 25) sobre altos contenidos de Al en las raíces de plantas tolerantes pues, se produciría allí la inmovilización del fósforo, presumiblemente como fosfato de aluminio, interfiriendo la translocación del elemento a la parte aérea.

En todas las variedades se incrementa la concentración de Al en la parte aérea de las plantas al aumentar el Al hasta 6 ppm en la solución nutritiva. Cuando el Al es mayor de 6 ppm, tres variedades, Radical, Andino e ICA Pijao, mantienen casi constante su contenido de Al mientras que en ICA Citará crece la absorción alcanzándose una concentración de 400 ppm de Al. Cambios menos bruscos en el contenido de Al se presentan justamente en las variedades más tolerantes. Incrementos más acentuados de Al en la planta en variedades sensibles al Al del suelo, que en variedades tolerantes ya han sido mencionados por otros autores. Como respuesta a las dosis crecientes de Al en el sustrato se aprecian tendencias antagónicas en las concentraciones de P y de Al en la parte aérea de las plantas (figuras 1 y 2)

En la literatura se encuentra información sobre el efecto inhibitorio del aluminio sobre la absorción de calcio por las plantas (23, 25). En este ensayo tal restricción no se manifestó drásticamente pues como se ve en la figura 3, el porcentaje de Ca en las variedades ICA Citará, Diacol Catio y Radical decrece mas no significativamente, al aplicar los tratamientos con aluminio. En las variedades Andino e ICA Pijao la concentración de Ca se mantiene constante o se incrementa al hacerse mayor el Al en la solución. En todos los casos los valores están dentro del intervalo adecuado: 0.80 a 3% (24). No hubo entonces deficiencia de calcio inducida por el aluminio a los pH considerados.

Ensayo 2. El conteo de las colonias que crecieron en el medio de Keyser y Munns con los distintos tratamientos aplicados se realizó a los 3, 4 y 5 días de incubación pero sólo se tomó en cuenta la lectura a los tres días pues después de este tiempo el pH del medio se vio modificado. Una cepa de *Rhizobium* se consideró tolerante a un tratamiento cuando el número de colonias producidas por ella no fue diferente estadísticamente del número de colonias producidas por esta cepa en el tratamiento control. La cepa CIAT 899 mostró tolerancia a la presencia de Al hasta en 9 ppm en

el medio de cultivo con pH 4.5 y las cepas CIAT 144 y CIAT 2 fueron tolerantes a 6 ppm de Al en el medio con pH 4.5. El número de colonias de cada cepa, en ausencia del Al, fue menor a pH 6 que a pH 4.5. El poco crecimiento a pH 6 fue también observado por Lindstrom y Myllyniemi (26) en un ensayo de sensibilidad de *Rhizobium trifolii* a la acidez y fue atribuido a inhibición causada por algunos componentes del medio. En nuestro caso esto no fue aclarado y no fue posible estimar el efecto del descenso del pH de 6 a 4.5 sobre el crecimiento del *Rhizobium*. Dado que las tres cepas fueron tolerantes a 6 ppm de Al, esta concentración se utilizó en la solución nutritiva del ensayo 3.

Ensayo 3. Las plantas que se nutrieron con NH_4NO_3 , se mostraron muy verdes y bien desarrolladas. Las plantas inoculadas presentaron poco follaje, color verde claro en algunos casos y en la variedad Diacol Catío las hojas más bajas tenían manchas amarillas. La tabla 2 expone los valores obtenidos para peso seco de los nódulos, peso seco de la parte aérea y N-total en la parte aérea. Hubo efecto significativo negativo del factor aluminio solo sobre el peso seco de los nódulos; la nodulación fue más sensible al Al en las variedades Radical y Andino especialmente cuando fueron inoculadas con CIAT 899 y CIAT 144 respectivamente. Estos resultados en frijol confirman las observaciones de otros autores como De Manzi y Cartwright en caupí (27) y Mookherji y Floyd en soya (8). El peso seco de parte aérea y el N-total en parte aérea manifiestan tendencia a resultados más bajos en las plantas que crecieron en presencia del Al pero los decrementos no fueron significativos bajo ninguna de las dos formas de aporte de nitrógeno, esto sugiere que el proceso de nodulación es más sensible a la acidez y a la toxicidad del Al que la planta hospedera por sí misma. A esta conclusión también han llegado otros investigadores citados por Mookherji y Floyd (8) pero estos últimos sí advirtieron severas reducciones en peso seco y N-total de parte aérea en soya inoculada, por acción del Al en la solución nutritiva. En la variedad Diacol catío todos los valores obtenidos en plantas inoculadas fueron iguales a los de plantas testigo (-N), se notó una clara deficiencia de nitrógeno y la no fijación simbiótica de N_2 . En las variedades Radical y Andino inoculadas con CIAT 899 y con CIAT 144 en ausencia de Al, se alcanzaron incrementos del 97% o más en el peso seco y en el N-total en parte aérea, en relación con los testigos respectivos indicando una simbiosis efectiva cuyo aporte de nitrógeno a la planta por fijación, fue bastante más bajo que el suministrado por el NH_4NO_3 . Se esperaba que la simbiosis entre variedades de frijol y cepas de *Rhizobium* tolerantes a pH bajo y al Al fuese efectiva en presencia de estos factores de acidez. La tabla 2 muestra que en variedades identificadas como más tolerantes, según el ensayo 1, los contenidos de nitrógeno son superiores a los de plantas testigo pero no significativamente diferentes.

A pesar de que las combinaciones Radical-CIAT 899, Radical-CIAT 144, Andino-CIAT 899, Andino-CIAT 144 e ICA Pijao-CIAT 2, en ausencia de Al, sobresalen en el conjunto de las plantas inoculadas por su peso seco y contenido de N-total, no podemos decir que su capacidad de fijación sea alta en estas condiciones de acidez.

Tabla 2. Variación en el peso seco de nódulos y de la parte aérea y en la absorción de nitrógeno de variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculadas con distintas cepas de *Rhizobium* o suplidas con nitrato de amonio, cuando crecieron en medio de pH 4.8 con y sin aluminio.

Variedad	Fuente de Nitrógeno	Pesos seco de nódulos mg/planta		Peso seco de la parte aérea mg/planta		N-total en parte aérea mg/planta	
		-Al	+Al	-Al	+Al	-Al	+Al
Radical	-N	2.5 d	4.0 d	210 ef	216 ef	6.5 e	7.1 e
	NH ₄ NO ₃	0.0	0.0	806 bc	640 c	36.6 bc	30.1 bc
	CIAT 899	35.2 ab	8.7 d	438 de	293 def	15.8 d	11.4 de
	CIAT 2	30.9 abc	17.2 bcd	300 def	293 def	10.4 de	10.2 de
	CIAT 144	38.1 ab	23.8 abc	427 de	413 def	15.9 d	13.8 de
Andino	-N	0.6 d	0.8 d	236 ef	243 def	8.0 e	9.1 de
	NH ₄ NO ₃	0.0	0.0	890 ab	1030 a	38.2 b	47.1 a
	CIAT 899	23.6 bc	10.4 cd	463 d	327 def	16.0 d	13.8 de
	CIAT 2	12.1 cd	11.3 cd	293 def	273 def	12.4 de	12.4 de
	CIAT 144	33.7 ab	6.3 d	465 d	300 def	17.5 d	12.3 de
Diacol Catio	-N	0.0 d	0.0 d	220 ef	210 ef	5.5 e	7.6 e
	NH ₄ NO ₃	0.0	0.0	783 bc	1050 a	29.0 c	47.9 a
	CIAT 899	5.2 d	7.1 d	287 de	277 def	9.9 de	9.9 de
	CIAT 2	14.6 bcd	17.3 bcd	246 de	293 def	5.5 e	9.3 de
	CIAT 144	19.0 bcd	5.3 d	283 def	263 def	8.4 de	9.1 de
ICA Pijao	-N	11.9 cd	4.1 d	250 def	180 f	8.5 de	4.9 e
	NH ₄ NO ₃	0.0	0.0	873 ab	730 bc	38.2 b	30.9 bc
	CIAT 899	32.2 abc	30.9 abc	323 def	316 def	11.7 de	1.1 de
	CIAT 2	45.4 a	25.7 abc	428 de	333 def	16.6 d	12.2 de
	CIAT 144	14.9 bcd	14.1 bcd	288 def	283 def	8.8 de	10.4 de
Totales		319.9	186.9	8509	7963	319.4	320.6

Cada valor es el promedio de tres repeticiones.

Valores con la misma letra dentro de una variable no son significativamente diferentes según la prueba de Duncan.

-Al = 0 ppm de Al; +Al = 6 ppm de Al.

Tabla 3. Peso seco de nódulos y de parte aérea y absorción de nitrógeno en dos variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculadas con cepas de *Rhizobium* o nutridas con NH_4NO_3 y cultivadas en medio de pH 5.5 o 6.0.

Variedad	Fuente de Nitrógeno	Peso seco de nódulos mg/planta		Peso seco parte aérea mg/planta		N-total en parte aérea mg/planta	
		pH 5.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 6.0	pH 5.5	pH 6.0
Radical	-N	1.5 d	26.0 bcd	265 c	375 c	6.5 d	9.1 d
	NH_4NO_3	0.9 d	0.0 d	776 b	1769 a	34.8 b	78.5 a
	CIAT 899	70.0 b	152.6 a	430 c	850 b	15.4 cd	21.6 c
	CIAT 144	69.5 bc	137.0 a	464 c	866 b	16.2 cd	24.9 bc
Andino	-N	7.7 cd	20.0 bcd	296 c	363 c	9.4 d	7.8 d
	NH_4NO_3	0.0 d	14.7 cd	789 b	1991 a	33.9 b	87.5 a
	CIAT 899	63.4 bc	125.7 a	462 c	845 b	15.7 cd	29.8 b
	CIAT 144	76.0 b	131.0 a	499 c	771 b	17.5 cd	25.8 bc
Totales	289.0	607.0	3981	7830	149.4	285.0	

Cada valor es el promedio de tres repeticiones.

Valores con la misma letra, dentro de una variable, no son significativamente diferentes según la prueba de Duncan.

Para darle un calificativo a la respuesta a la inoculación en las combinaciones citadas se tomó en cuenta el criterio que el Centro Internacional de Agricultura Tropical aplica a leguminosas forrajeras basado en la diferencia, en nitrógeno total producido, entre el tratamiento dado y el testigo no inoculado (28). Para incrementos no significativos, como es nuestro caso, la respuesta se considera regular.

Ensayo 4. La información obtenida aparece en la tabla 3. El ascenso del pH de la solución de 5.5 a 6 afecta positiva y significativamente el peso seco de los nódulos con incrementos entre el 70 y el 100% y el peso seco aéreo con incrementos entre el 55 y el 98% en plantas inoculadas apreciándose los mayores resultados en la pareja Radical-CIAT 899. La absorción de nitrógeno en plantas inoculadas o nutridas con NH_4NO_3 se incrementa, con relación al testigo, entre el 40 y el 100% al subir el pH pero las diferencias fueron significativas sólo para Andino-CIAT 899 y para las dos variedades nutridas con nitrógeno combinado. Aun a pH 6 el nitrógeno en plantas inoculadas es bastante más bajo y diferente estadísticamente al absorbido en parte aérea cuando la fuente de nitrógeno fue el NH_4NO_3 . Sin embargo, la respuesta a la inoculación a pH 6 fue buena para la variedad Radical y excelente para la variedad Andino (incrementos significativos del N-total hasta del doble o más del doble del testigo) según el criterio de CIAT ya mencionado.

Los datos de las tablas 2 y 3 para las variedades Radical y Andino dejan ver que, el peso seco y el nitrógeno en plantas inoculadas y cultivadas sin Al en el medio, presentan valores similares para los pH 4.8 y 5.5. Es necesario llevar el valor del pH hasta 6 para beneficiar la fijación de nitrógeno y obtener una mejor respuesta a la inoculación del frijol.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Química de la Universidad Nacional y al CINDEC por los aportes financieros necesarios para el desarrollo de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. Giller, K. E. *Soil Use and Management*. 1990, 6(12), 82-84.
2. Sylvester-Bradley, R. *Suelos Ecuatoriales*. 1983, 13(2), 45-50.
3. Graham, P.H.; Temple, S. R. *Plant and Soil*. 1984, 82, 315-327.
4. Graham, P. H.; Apolitano, C.; Ferrera-Cerrato, R. *Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture*. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia, 1981, 223.

5. Vargas, A.; Graham, P. H. *Plant and Soil*. 1989, 117, 195-200.
6. Vieira, C. *Cultura do feijão*. Universidade Federal Viçosa, Viçosa, 1983.
7. Richardson, A. E.; Simpson, R. J. *Soil Biol Biochem*. 1989, 21(1), 87-95.
8. Mookherji, S.; Floyd, M. *Plant and Soil*. 1991, 136, 25-29.
9. Keyser, H. H.; Munns, D. N. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1979, 43, 519-523.
10. Vargas, A.; Graham, P. H. *Field Crops Res.* 1988, 19, 91-101.
11. Campos, R. *Suelos Ecuatoriales*. 1991, 21(2), 131-135.
12. Graham, P. H.; Viteri, S. E.; Mackie, F.; Vargas, A. *Field Crops Res.* 1982, 5, 121-128.
13. Wheeler, D. M.; Edmeades, D. C.; Christie, R. A.; Gardner, R. *Plant and Soil*. 1992, 146, 61-66.
14. Muñoz, R.; Molina, L. *Suelos Ecuatoriales*. 1990, 20(2), 125-129.
15. Ortega, J.; Thung, M. *Suelos Ecuatoriales*. 1987, 17(1), 146-151.
16. Franco, A. A.; Munns, D. N. *Plant and Soil*. 1982, 66, 149-160.
17. Centro Internacional de Agricultura Tropical. *Simbiosis leguminosa-Rizobio. Manual de métodos de evaluación, selección y manejo agronómico*. CIAT. Cali, Colombia, 1988.
18. Salinas, J. G.; García, R. *Métodos químicos para el análisis de suelos ácidos y plantas forrajeras*. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia, 1985.
19. Thornton, F. C.; Schaedle, M. *Comm. in Soil Plant Anal.* 1985, 16(9), 931-941.
20. Aarons, S. R.; Graham, P. H. *Plant and Soil*. 1991, 134, 145-151.
21. Howler, R. H.; Cadavid, L. F. *Agronomy Journal*. 1976, 68, 551-555.
22. Malavolta, E.; Nogueira, F. D.; Oliveira, I. P. *Journal of Plant Nutrition*. 1981, 3(1-4), 687-694.
23. Van Schoonhoven, A.; Voysest, O. (eds). *Common beans: Research for crop improvement*. RedWood Pres Ltd. Wiltshire. 1991.
24. Ayarza, M. A.; Salinas, J. G. *Suelos Ecuatoriales*. 1982, 12(1), 110-125.
25. Ohki, K. *Plant and Soil*. 1987, 98, 195-202.
26. Lindstrom, K.; Myllyniemi, H. *Plant and Soil*. 1987, 98, 353-362.
27. De Manzi, J. M.; Cartwright, P. M. *Plant and Soil*. 1984, 80, 423-430.
28. Centro Internacional de Agricultura Tropical. *Efectividad relativa de combinaciones de rizobios con leguminosas forrajeras tropicales*. Documento de trabajo No. 49, 5a edición. 1989.