

INOCULACIÓN DE *Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit, CON RIZOBACTERIAS Y ENDOMICORRIZA PARA AUMENTAR SU PRODUCTIVIDAD EN SUELOS ÁCIDOS

INNOCULATION OF *Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit WITH RHIZOBACTERIA AND ENDOMYCORRHIZAE TO INCREASE THEIR PRODUCTIVITY IN ACID SOILS

Aguirre-Medina, J.F.¹; Valdés, M.²; Velazco-Zebadúa, M.E.^{3*}

¹ Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Ciencias Agrícolas. Entronque carretera costera y Estación Huehuetán. CP 30660, Huehuetan, Chiapas, México. ² Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Microbiología Agrícola. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n. Col. Santo Tomás, Delegación Miguel Hidalgo. CP 11340, México, D.F. ³ Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Veterinaria y Zootecnia. Rancho San Francisco, Km 8.0 carretera Terán a Ejido Emiliano Zapata. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

* **Autor de correspondencia:** mvelazcoz@correoweb.com

RESUMEN

Se presentan resultados generados sobre la aplicación de *Rhizobium loti*, *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense*, a *Leucaena leucocephala*, solos o en coinoculación. Se aislaron cepas de *R. loti*, y evaluaron en suelos de baja y mediana fertilidad bajo condiciones de invernadero. Así mismo, se inoculó *R. loti-R. intraradices* y *A. brasilense-R. intraradices* en suelo sabanoide. Se encontró que las poblaciones de rizobios en suelos no sabanoides es diversa y *L. leucocephala* expresó ventajas en su crecimiento con cepas efectivas y cantidades adecuadas de fósforo en las dos condiciones de suelos. Su establecimiento en suelos ácidos respondió de manera diferencial a las cepas de rizobios. La coinoculación *R. loti-R. intraradices*, y *A. brasilense-R. intraradices* indujo mayor desarrollo vegetal que incrementó con la adición de fósforo y nitrógeno.

Palabras clave: Trópico, Chiapas, microorganismos, simbiosis.

ABSTRACT

The results generated from the application of *Rhizobium loti*, *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense*, to *Leucaena leucocephala*, alone or in co-inoculation, are presented. Strains of *R. loti* were isolated and evaluated in soils of low and medium fertility, under greenhouse conditions. Likewise, *R. loti-R. intraradices* and *A. brasilense-R. intraradices* were inoculated in sabanoid soil. The populations of rhizobia in non-sabanoid soils were found to be diverse, and *L. leucocephala* expressed advantage in its growth with effective strains and adequate amounts of phosphorus in the two soil conditions. Their establishment in acid soils responded in a differential manner to the rhizobia strains. The co-inoculation with *R. loti-R. intraradices* and *A. brasilense-R. intraradices* induced greater plant development, which increased with the addition of phosphorus and nitrogen.

Keywords: Tropics, Chiapas, microorganisms, symbiosis.



INTRODUCCIÓN

La leucaena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) (Mimosaceae) es una planta con amplia diversidad biológica en México y extensa distribución ambiental (Zárte, 1994), con múltiples usos registrados (NAS, 1977), sin embargo, su incorporación como planta forrajera en bancos de proteína o asociada a diversos pastos en el trópico es la más relevante. Su potencial alimenticio en animales ha sido documentado en México (Aguirre-Medina y Garrido, 2002; Solorio y Solorio, 2008), Venezuela (Fernández *et al.*, 1997), Colombia (Mahencha, *et al.*, 2004), Cuba (Cino *et al.*, 2011); presenta capacidad de rebrote por efecto de poda, además de un sistema radical muy exploratorio que le permite transportar nutrientes y agua y en consecuencia se expresa en mayor biomasa del vástago (De la Garza *et al.*, 1997), además tiene la capacidad para asociarse a diferentes microorganismos del suelo y favorecer su nutrición, lo cual en conjunto, inducen mayor producción de biomasa forrajera de calidad superior a la gramínea para los animales en pastoreo, no solo en la temporada de lluvias, sino también, en las temporadas de sequía. Las características morfológicas y fisioló-

gicas de *L. leucocephala*, han sido buenas como alternativa para enfrentar algunos problemas en las explotaciones ganaderas de regiones tropicales, tales como, las deficiencias de nitrógeno en praderas, tropicales expuestas a lixiviación, o bien, las deficiencias de fósforo debido a la condición ácida de los suelos. Dado que generalmente no se reponen los nutrientes extraídos por los bovinos en pastoreo, las praderas tropicales reducen la disponibilidad de alimento con proteína durante la temporada de sequía, y por ello, la inclusión de las leguminosas como la leucaena, en sistemas de producción puede ser muy eficiente.

Las leguminosas y otras plantas realizan un amplio rango de actividades con los microorganismos en la rizosfera (Kennedy, 2005), desdoblan la materia orgánica, liberan elementos inorgánicos mediante el proceso de mineralización (Crowley *et al.*, 1991), realizan la fijación del nitrógeno atmosférico (Döbereiner *et al.*, 1995), la producción de sustancias reguladoras del crecimiento (Arshad y Frankenberger, 1991), incremento en el volumen de la raíz (Bowen y Rovira, 1999), inducción de resistencia sistémica a patógenos (Van Peer *et al.*, 1991), inhibición del crecimiento de organismos patógenos (Utkhede

et al., 1999) y la interacción sinérgica con otros microorganismos del suelo (Bashan *et al.*, 1996), como la generada con *Rhizobium* y *Azospirillum*, que han tenido interacción positiva en el desarrollo radical y el vástago del frijol (*Phaseolus* sp.) (Aguirre-Medina *et al.*, 2005), con *Rhizophagus intraradices* y *Rhizobium* en *Leucaena* (Aguirre-Medina y Velasco, 1994) y la simbiosis tripartita *Rhizophagus-Azospirillum-Leucaena* (Ruiz *et al.*, 2005). Con base en lo anterior, se documentan en este trabajo resultados de la investigación acerca de la aplicación de *Rhizobium loti*, *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense*, solos o en coinoculación, en la costa de Chiapas, México, relacionados con establecimiento en campo, producción de biomasa en invernadero y campo, y aportación en el contenido de nitrógeno y fósforo en el tejido vegetal (Figura 1).

Estudio de aislamiento de cepas de *Rhizobium*

Leucaena nodula de manera natural en la mayoría de los suelos de Chiapas, excepto en suelos ácidos de Arriaga-Tonalá (Martínez *et al.*, 1982) con *Rhizobium loti* (Jordan, 1983), aunque recientemente ha tenido cambios en su taxonomía aceptán-

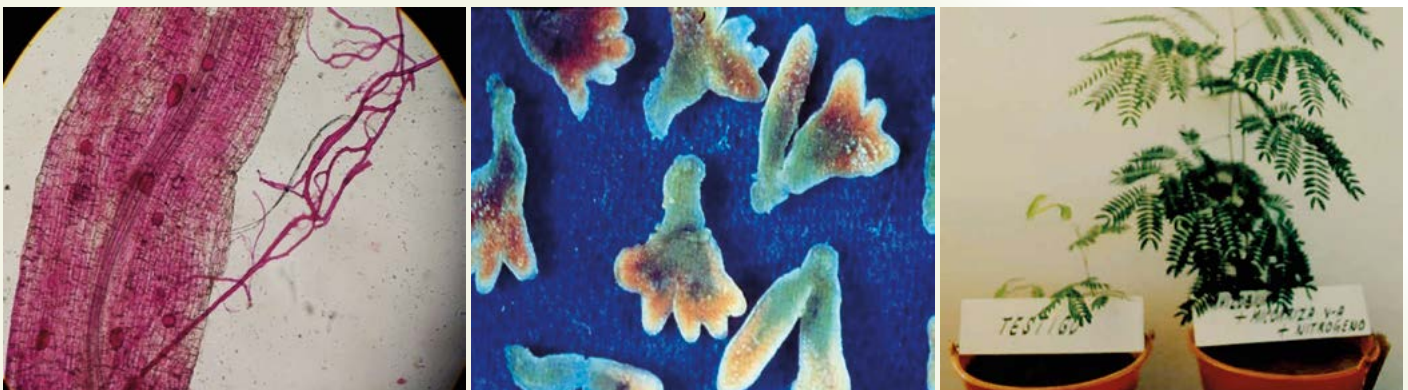


Figura 1. Microorganismos asociados a *Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit.

Cuadro 1. Número de simbioses de *Rhizobium* spp., nodulantes con *Leucaena leucocephala* cv. Perú en la costa de Chiapas y características físico-químicas de suelos***.

Sitio de Muestreo y Municipio	P**	K**	pH	% Materia Orgánica	Núm. rizobios gr suelo ⁻¹ *
La Norteña (Tapachula)	3.6	660	7.1	2.12	3.15
Huehuetán (Huehuetán)	4.3	442	6.2	2.26	4.50
Los Carlos (Villa Comaltitlán)	24.4	880	6.4	3.38	48.50
El Diamante (Acapetahua)	6.3	490	6.2	2.12	2.74
La Aurora (Mapastepec)	16.8	380	6.1	4.50	2.88
Jericó (Pijijiapan)	24.1	171	6.4	3.24	9.85
Nancinapa (Pijijiapan)	15.1	380	5.8	4.23	37.26
Ocuilapa (Tonalá)	3.3	251	5.6	2.82	0
El Llano (Arriaga)	12.2	410	5.1	1.83	0
Santa Anita (Arriaga)	4.6	194	8.1	3.67	2.06
La Gloria (Tonalá)	2.6	290	6.5	3.53	0.66

* NMP. Según Vincent 1975. ** Determinación microbiológica. *** Fuente: Martínez et al., 1982.

Cuadro 2. Contenido de nitrógeno en *L. leucocephala* cv. Perú con cepas de *Rhizobium* seleccionadas en la Costa de Chiapas, México.

Localidad de origen de la cepa	Cepa de <i>Rhizobium</i>	% de N Total	% de Proteína ¹	% de Efectividad relativa ²
		NO ⁻³	5.6	31.9
	T	1.8	10.3	0.0
La Norteña (Tapachula)	N 1-N 5	3.7	21.1	50.0
	N 6	3.8	21.7	52.0
	N 7	4.8	22.8	58.0
Huehuetan (Huehuetan)	U 9- U11 y U13	4.0	22.8	58.0
Los Carlos (Villa Comaltitlán)	C 14	3.6	20.5	47.0
El Diamante (Acapetahua)	D 19	3.8	21.7	52.0
	D 20	4.1	23.4	60.0
La Aurora (Mapastepec)	LA 21	4.3	24.5	66.0
	LA 22 y 24	3.8	21.7	52.0
	LA 23	4.6	26.2	74.0
Jericó (Pijijiapan)	J 28	3.6	20.5	47.0
Nancinapa (Pijijiapan)	NA 30 y 33	3.8	21.7	52.0
	NA 32	3.9	22.2	55.0
Ocuilapa (Tonalá)	O 35	3.8	21.7	52.0
Santa Anita (Arriaga)	SA 40 y 42	3.8	21.7	52.0
	SA 41	4.2	23.9	63.0
La Gloria (Tonalá)	LG 44	3.8	21.7	52.0
	LG 46	4.0	22.8	58.0

NO³=nitrato y T=Testigo sin inocular ni fertilización química. ¹Promedio de cuatro determinaciones. ²Con relación a los contenidos de nitrógeno en las plantas alimentadas con nitrato menos el contenido de nitrógeno de las plantas testigo.

dose como *Rhizobium tropici* Tipo II A y II B (Martínez-Romero et al., 1991), sin embargo en lo sucesivo se citará como *Rhizobium loti* J; mientras que para el hongo *Glomus intraradices* (Schenk et Smith) se seguirá a Schuessler y Walker (2010). Las bacterias son muy diversas en cuanto a su fisiología y bioquímica, incluyendo su capacidad infectiva y efectividad en la fijación biológica del Nitrógeno. Al inocular *L. leucocephala* el número de días en que aparecieron los nódulos en las plantas varía de 13 a 21 (Martínez et al., 1982) (Cuadro 1).

Las cepas de colonización tardía dominan en suelos de Los Carlos, La Aurora, Jericó y Nancinapa, que corresponden a la parte media de la planicie costera. Estos suelos tienen los niveles más altos de fósforo y la materia orgánica es superior a 3%. Aparentemente las otras variables del suelo no representan relación con el tipo de infección de las cepas aisladas como se muestra la eficiencia relativa de cepas. Ninguna de las cepas aisladas fue tan efectiva como la aplicación de 100 kg ha⁻¹ de nitrógeno; sin embargo, hubo cepas que fueron capaces de sustituir al fertilizante nitrogenado hasta en 74% (Cuadro 2).

Respuesta a cepas de *Rhizobium* sp. en invernadero

En dos suelos de la Costa de Chiapas, uno de mediana fertilidad (Jericó, Municipio de Pijijiapan) y el otro ácido (El Llano, Municipio de Arriaga), se evaluaron cepas de *Rhizobium loti* más promisorias, considerando además estudiar su comportamiento con aplicación de fertilización nitrogenada y fosfatada bajo condiciones de invernadero (Figuras 2 y 3). La producción vegetal de *L. leucocephala* inoculada

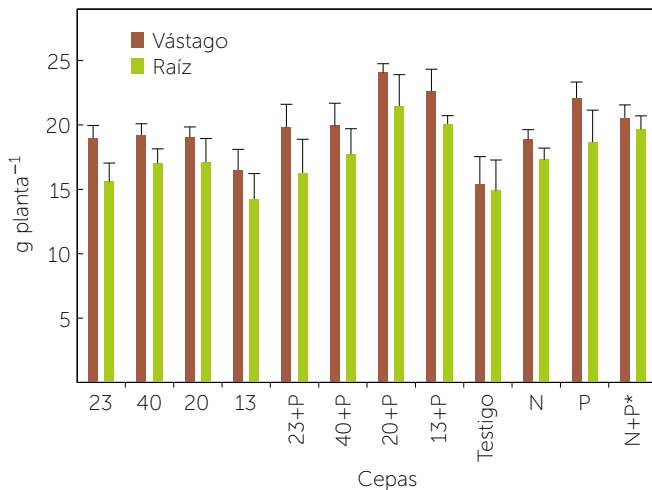


Figura 2. Producción de materia seca de *Leucaena leucocephala* cv Perú inoculada con cepas de *Rhizobium* en suelo de mediana fertilidad (Jericó, pH 6.4) de la costa de Chiapas después de siete meses de crecimiento en invernadero. Valores \pm error estándar de cuatro repeticiones. *N=160 kg.ha⁻¹ y P=200 Kg.ha⁻¹. Adaptado de: De la Garza et al., 1987.

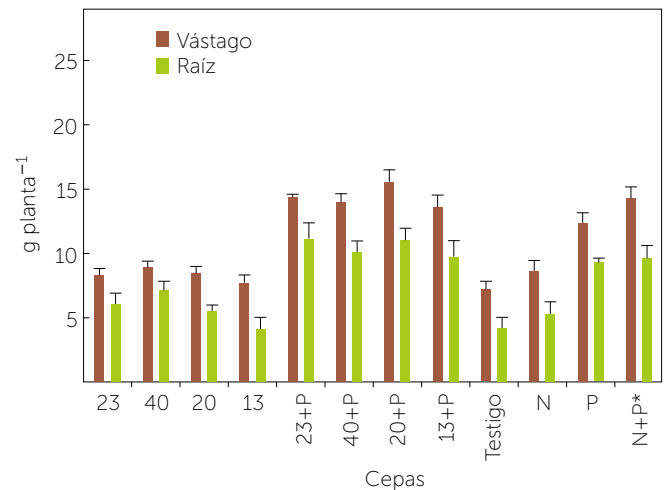


Figura 3. Producción de materia seca de *Leucaena leucocephala* cv Perú inoculada con cepas de *Rhizobium* en suelo de baja fertilidad (El llano, pH 5.2) de la costa de Chiapas después de siete meses de crecimiento en invernadero. Valores \pm error estándar de cuatro repeticiones. *N=160 kg.ha⁻¹ y P=200 Kg.ha⁻¹. Adaptado de: De la Garza et al., 1987.

con *Rhizobium loti* presentó aumentos en los dos suelos y entre tratamientos con relación al testigo. El aumento más notable fue en el sitio "El llano" donde el pH es ácido y se tiene deficiencia de Nitrógeno (Figura 4). Se evidenció además, la importancia del fósforo en ambos sitios en el desarrollo vegetal de *L. leucocephala*. Entre cepas, se encontraron diferencias importantes en la producción vegetal aérea y del sistema radical, así como, en el contenido de nitrógeno. Las plantas fijadoras de nitrógeno generalmente requieren más fósforo en comparación con las plantas que no lo fijan (Graham, 2005) y

la interacción entre los organismos participantes, como la planta y los microorganismos tienen impacto significativo en la fijación de nitrógeno (Antunes y Goss, 2005).

La cantidad de nitrógeno determinado en el tejido vegetal de ambos sitios y con las mismas cepas, presentaron mayor contenido en los tratamientos donde se combinaron las cepas más el fósforo. Este nutriente es importante en el desarrollo de la colonización de la bacteria (Graham, 2005) y el proceso de fijación de nitrógeno es más eficiente (Antunes y Goss, 2005). Entre cepas, presentaron niveles de nitrógeno semejantes en ambas condiciones de suelo, situación que refleja la selección de las mismas y su importancia en la adaptación regional. Los resultados expresan las ventajas del crecimiento de *L. leucocephala* con cepas efectivas de *Rhizobium* sp., y cantidades adecuadas de fósforo, sin nitrógeno en los suelos de mediana y baja fertilidad. En condiciones de campo en un suelo sabanoide de la costa de Chiapas (El Llano, Arriaga) se estudió la producción de materia seca por efecto de diferentes cepas de *Rhizobium* sp., con fertilización nitrogenada y/o fosfatada, comparando dos cepas de referencia, NGR 8 y TAL 1145, con aislamientos locales (Cuadro 3).

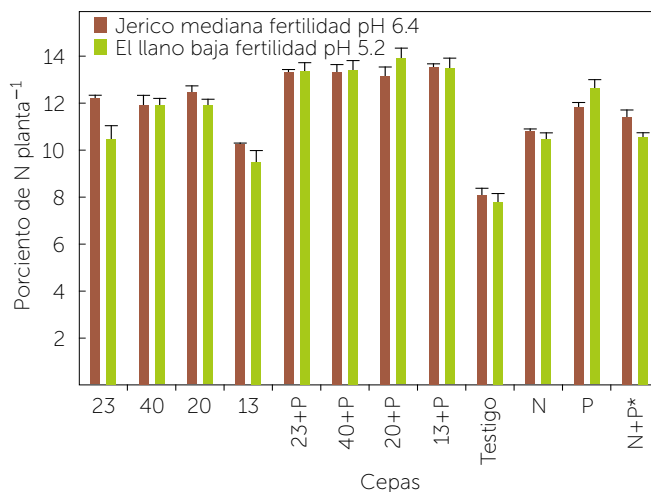


Figura 4. Porcentaje de nitrógeno total en parte aérea de *Leucaena leucocephala* cv Perú inoculada con cepas de *Rhizobium* en dos suelos de la costa de Chiapas después de siete meses de crecimiento en invernadero. Valores \pm error estándar de cuatro repeticiones. *N=160 kg.ha⁻¹ y P=200 Kg.ha⁻¹ Adaptado de: De la Garza et al., 1987.

A las 15 semanas después de siembra se registró respuesta significativa ($p \leq 0.05$) a la aplicación de N+P (nitrógeno más fósforo) y a la inoculación con la cepa TAL 1145. En la evaluación a las 53 semanas del establecimiento, que coincidió con la temporada de lluvias en la

Cuadro 3. Materia seca de *Leucaena leucocephala* cv Perú con diferentes cepas de *Rhizobium* en suelo sabanoide de la costa de Chiapas, México.

TRATAMIENTOS	Semanas después de la siembra (t ha ⁻¹)		
	15	52	78
Cepas de <i>Rhizobium</i> sp.			
LA-11	0.09 bc*	7.29 b	9.48 b
NGR 8	0.14 ab	13.01 a	11.52 a
TAL 1145	0.16 a	12.83 a	10.00 a
J-5	0.12 ab	11.80 a	7.80 b
Fertilización			
Nitrógeno (100 kg de N ha ⁻¹)	0.04 ab	0.47 c	0.32 f
Fosforo (60 Kg ha ⁻¹)	0.14 ab	6.28 b	3.77 e
Nitrógeno+Fosforo	0.19 a	12.70 a	6.40 d
Testigo	0.05 c	1.19 c	0.75 f

Surcos separados a 1.5 m. El nitrógeno se aplicó en forma de urea cada 15 días a razón de 20 kg ha⁻¹ con un total de 100 kg de N ha⁻¹. El fósforo todo a la siembra y como fuente superfosfato de calcio triple. ** Testigo sin inoculación ni fertilización. FUENTE: Aguirre y Valdés (1993). * Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0.05$) según la prueba de Duncan.

región, la mejor respuesta en la producción de materia seca fue NGR 8, TAL 1145 y la cepa local J-5 además del tratamiento con aplicación de N y P. En la tercera evaluación, a las 78 semanas después de la siembra y época seca en la región, las plantas inoculadas con NGR 8 y TAL 1145 dieron los mejores rendimientos de materia seca. En la fase de establecimiento en suelos ácidos *L. leucocephala* respondió hasta las 78 semanas de manera diferencial a las cepas de Rizobios. Las cepas de referencia confirmaron su efectividad en estas condiciones de campo. En otro suelo de mediana fertilidad (Jericó, Pijijiapan) se evaluó su producción de materia seca bajo las mismas cepas de referencia (TAL 1145 y NGR 8) en comparación con cepas de *Rhizobium*

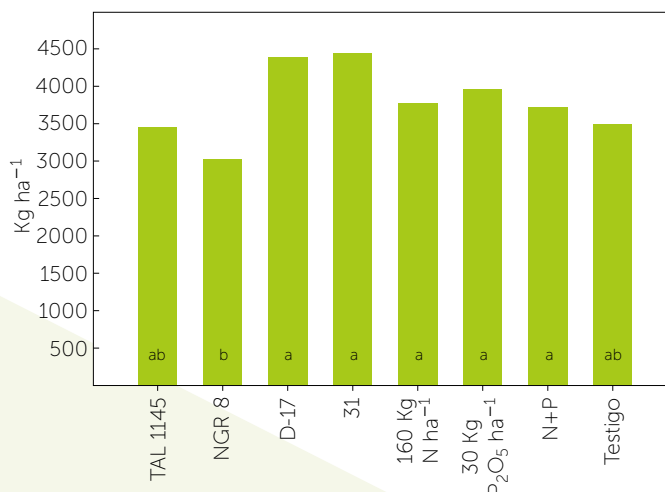


Figura 5. Producción de materia seca de *Leucaena leucocephala* cv Perú con cepas de *Rhizobium* sp., y fertilizantes químicos en suelo de mediana fertilidad de la costa de Chiapas. Valores promedios de cuatro repeticiones. Surcos separados a 1.0 m. *30 kg. de P₂O₅ en las cepas de *Rhizobium* sp., y en los tratamientos fertilizados a la siembra. ** El nitrógeno se aplicó cada 15 días a razón de 20 kg ha⁻¹ hasta un total de 160 kg. Testigo sin inocular ni fertilizar. Adaptado de Ruiz G. (1991).

sp., aisladas en México (D-17, en la Costa de Chiapas y la 31 aislada en valles centrales de Oaxaca) y fertilizadas con N y P. Los resultados de producción de materia seca acumulada de tres cortes durante 231 días (Figura 5) indicaron la presencia de cepas nativas que lograron inducir un mayor desarrollo vegetal en comparación con algunas de las cepas de referencia. Por otra parte, la producción alcanzada con aplicación del tratamiento nitrogenado sugiere baja eficiencia de las cepas nativas, como lo indicó Martínez et al. (1982). Las cepas de *Rhizobium* sp., que lograron mayor producción de materia seca acumulada a través de tres cortes fueron la D-17 y la 31.

Simbiosis *Rhizophagus intraradices* y *Rhizobium loti*

La inoculación de *Rhizophagus intraradices*-*Rhizobium* a *L. leucocephala* es una importante asociación que puede incrementar su cantidad y calidad de materia seca. Este trabajo se evaluó en invernadero con suelo sabanoide de Arriaga, Chiapas mediante el hongo *Rhizophagus intraradices* propagado en raíces de poro (*Allium poro*) con 90% de colonización. El inoculante de *Rhizobium loti* se elaboró con la cepa CIAT 1976 con 300×10^6 bacterias por gramo de turba. El inoculo micorrízico se depositó a 5 cm de profundidad a razón de 4 g⁻¹ de inoculo por macesta. El grueso del inoculo de rizobio fue de 5% con base al peso seco de la semilla y revestida con carbonato de calcio. Los resultados de biomasa, colonización radical y número de nódulos se presentan en el Cuadro 4. El peso seco de raíces de tratamientos nitrogenados fue el más bajo, mientras que el más alto se registró al incluir el fósforo (Cuadro 4). La asignación de materia seca

Cuadro 4. Componentes fisiológicos del rendimiento en *Leucaena leucocephala* cv Perú con inoculación doble en un suelo ácido de Chiapas.

Tratamiento	Peso seco g 2 plantas ⁻¹			Relación Vástago/Raíz g g ⁻¹	% Colonización <i>Rhizopagus</i> sp.	Número nódulos
	Raíz	Tallo	Hojas			
Testigo**	0.94 h	1.16 gh	0.83 e	1.23	0	0
<i>Rhizobium</i>	5.00cde	2.39 def	3.54 d	1.18	0	39
<i>Rhizopagus</i>	5.21bcd	2.19 ef	3.87 d	1.16	68	0
Nitrógeno (N)	2.71 fg	1.67 fg	3.58 d	1.93	0	0
Fósforo (P)	6.69 ab	2.92 cde	4.13 d	1.04	0	0
<i>Rhizobium</i> + <i>Rhizopagus</i>	6.32abc	2.33 ef	3.61 d	0.93	59	30
<i>Rhizobium</i> +N	1.77 gh	0.83 h	1.96 e	1.57	0	0
<i>Rhizobium</i> +P	5.99abcd	3.19 cd	4.57 cd	1.29	0	23
<i>Rhizopagus</i> +N	3.65 ef	1.88 fg	3.92 d	1.59	65	0
<i>Rhizopagus</i> +P	7.40 a	3.43 bc	4.74 cd	1.10	70	0
N+P	4.59 de	3.40 bc	6.70 b	2.90	0	0
<i>Rhizobium</i> + <i>Rhizopagus</i> +N	5.54 bcd	3.30 bc	5.54 bc	1.59	63	0
<i>Rhizobium</i> + <i>Rhizopagus</i> +P	5.59abcd	4.01 b	5.55 bc	1.71	85	31
<i>Rhizobium</i> + <i>Rhizopagus</i> +N+P	4.82 de	5.32 a	8.74 a	2.80	70	0
C.V. %	21.8	21.2	19.4			

Como fuente de nitrógeno se utilizó el nitrato de amonio (20 kg ha⁻¹ cada 10 días y como fósforo, el superfosfato de calcio triple a 120 kg ha⁻¹. La aplicación del fertilizante fosforado se hizo antes de la siembra mezclado con el suelo. *Diferencia estadística significativa según la DMS al 5% de probabilidad. ** Testigo sin inoculación ni fertilización química. FUENTE: Aguirre-Medina y Velazco (1994).

al tallo fue mayor en tratamientos donde se incluyó a *Rhizobium*, micorriza y fósforo. En estos tratamientos también se encontraron los porcentajes más altos de colonización micorrízica y el menor con la aplicación de *Rhizobium*+nitrógeno. El peso seco de las hojas (lámina foliar+pecíolo+peciolulo) en el tratamiento testigo y el fertilizado con nitrógeno+*Rhizobium* se redujo en la misma tendencia que los otros componentes del rendimiento. El tratamiento fosfatado más la adición de *Rhizobium* y/o *Rhizopagus* tuvo valores semejantes y aumentaron cuando se combinaron los dos microorganismos más el fósforo. En los suelos ácidos del trópico, el fósforo es una limitante del desarrollo vegetal y su inclusión vía química facilita su incorporación (Wright, 2005).

La relación vástago/raíz fue mayor en los tratamientos con fertilización nitrogenada más fósforo, sin embargo, cuando en este tratamiento se incluyeron *Rhizobium* sp., y *Rhizopagus intraradices* fue inferior si no contó con fertilización química. La nodulación fue inhibida en los tratamientos con nitrógeno y aumentó con fertilización fosfatada. La colonización total de la micorriza mostró valores más altos cuando se incluyó la inoculación dual más el fósforo. Lo contrario sucedió al incluir las altas

dosis de nitrógeno. El análisis químico reflejó que contenido de N y P en el tejido vegetal de *L. leucocephala* fue más alto cuando existió inoculación de dos microorganismos más N y P (Figura 6).

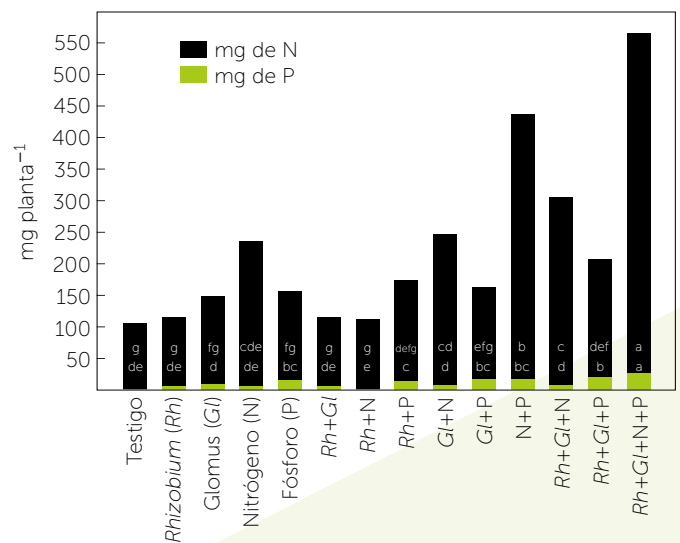


Figura 6. Nitrógeno y fósforo (mg) en el tejido vegetal de *L. leucocephala* inoculada con rizobios y micorriza en un suelo ácido de la costa de Chiapas. *Diferencias estadísticas significativas según la DMS al 5% de probabilidad en cuatro repeticiones. Testigo sin inoculación ni fertilización química. Adaptado de Aguirre-Medina y Velazco (1994).

El número de nódulos encontrados en el sistema radical fue pequeño, sin embargo, la cepa utilizada confirmó su eficiencia para inducir el desarrollo vegetal de *L. leucocephala* en suelos ácidos. En la inoculación doble, el número de nódulos varió muy poco. La colonización de micorriza en el sistema radical se detectó desde los 10 días y la estructura principal fue la hifa, a través del tiempo, las estructuras aumentaron y lograron su mayor desarrollo a los 20 y 30 días después de siembra. El mayor desarrollo vegetal de *L. leucocephala* se logró con la inoculación de *Rhizobium* sp., + *R. intraradices* y la aplicación de N y P. La alta fertilización nitrógenada sola o en combinación con los microorganismos disminuyó la producción de biomasa y la inoculación de los microorganismos favoreció la concentración de N y P en el tejido vegetal.

Simbiosis *Rhizophagus intraradices*+*Azospirillum brasilense*

El experimento se desarrolló en invernadero en suelo Andosol molico del Soconusco, Chiapas. *Azospirillum brasilense* tenía 100×10^6 células por gramo de turba con

molido fino y *Rhizophagus intraradices* en suelo como sustrato y cebolla (*Allium poro*) como planta hospedera. Al momento del envase se tuvieron 200 esporas por gramo de suelo y el nivel de colonización en el sistema radical registrado fue 95%. Se incrementó el área foliar de *Leucaena L. leucocephala* desde el inicio de la investigación con la aplicación de los microorganismos en comparación con el testigo y el efecto permaneció hasta el último muestreo (Figura 7). El incremento fue diferencial entre los microorganismos y presentó efecto sinérgico al combinarlos (Figura 8).

Este efecto en otras plantas ha sido registrado con hongo micorrízico (Aguirre-Medina y Velazco, 1994).

CONCLUSIONES

La presencia de poblaciones de rizobios en suelos no sabanoides de la Costa de Chiapas, es diversa y *L. leucocephala* expresó ventajas en su crecimiento con cepas efectivas y cantidades adecuadas de fósforo en las dos condiciones de suelos; y en la fase de esta-

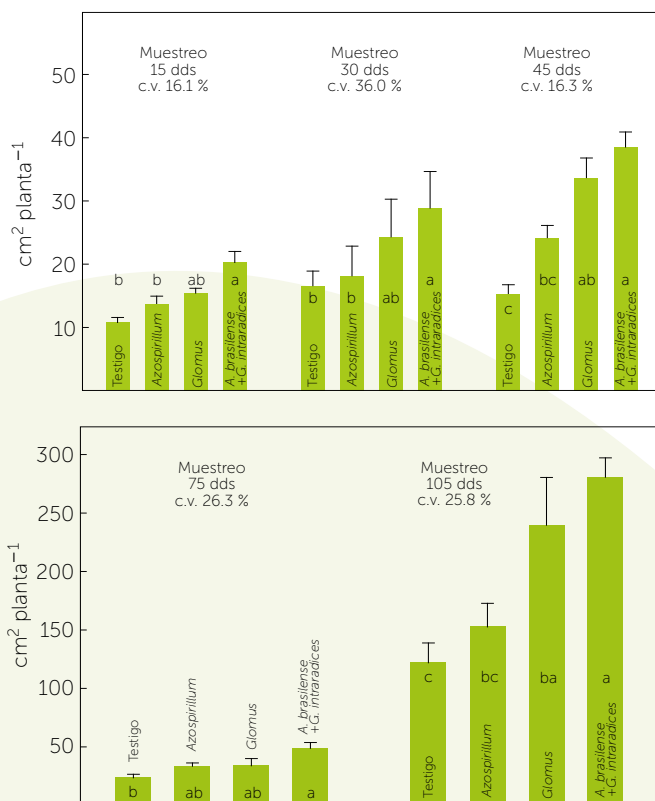


Figura 7. Área foliar de *Leucaena leucocephala* inoculada con dos microorganismos solos o combinados al momento de la siembra en un suelo Andosol del Soconusco, Chiapas. La línea vertical indica \pm error estándar de cuatro repeticiones y letras diferentes entre columnas son diferentes según Tukey $p \leq 0.05$.

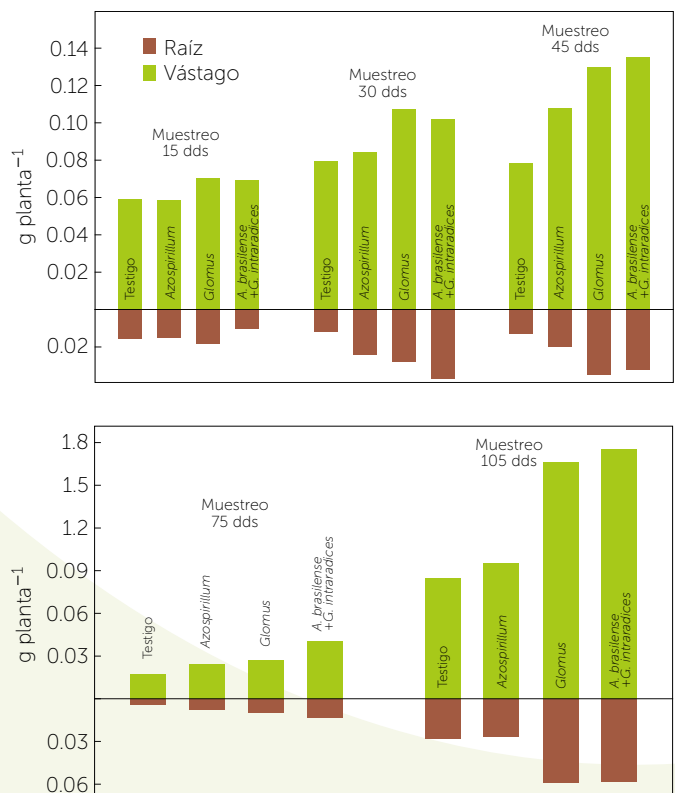


Figura 8. Relación vástago-raíz del huaje *Leucaena leucocephala* inoculada con dos microorganismos. Los valores son promedios de cuatro repeticiones.

blecimiento en los suelos ácidos respondió de manera diferencial a las cepas de Rizobios. Las cepas de referencia confirmaron su efectividad en estas condiciones de campo. La coinoculación de rizobios y micorriza-arbuscular, ó *Rhizophagus*+*Azospirillum* indujo mayor desarrollo vegetal y se incrementa con la adición de N y P, favoreciendo además la concentración de nitrógeno y fósforo en el tejido vegetal.

LITERATURA CITADA

- Aguirre- Medina J.F. 1985. Componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento en frijol *Phaseolus vulgaris* al inocularse con micorriza vesicular-arbuscular y dinámica de las estructuras del hongo. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados.
- Aguirre-Medina J.F., Valdés M. 1993. Establecimiento y producción de *Leucaena leucocephala* inoculada con *Rhizobium* en un suelo ácido. Pasturas Tropicales. Vol 15 (2): 29-31.
- Aguirre-Medina J.F., Velazco Z.M.E. 1994. Componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento de *Leucaena leucocephala* al inocularse con micorriza VA y/o *Rhizobium loti*. Agricultura Técnica en México. Vol. 20(1) p. 43-54.
- Aguirre-Medina J.F., Velazco Z.M.E. 1994. Dinámica de las estructuras de la micorriza Vesicular-Arbuscular y contenido de fósforo en el huaje *Leucaena leucocephala*. Tercera Reunión Científica del Sector Agropecuario y forestal del Estado de Chiapas. Realizada del 3-4 de mayo de 1994 en Tuxtla Gtz., Chis.
- Aguirre-Medina J.F., Garrido-Ramírez E.R. 2002. *Leucaena*: una alternativa para la alimentación animal en Chiapas. Folleto Técnico No. 1. División Agrícola. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones regionales Pacífico Sur. Campo Experimental Rosario Izapa. 71 p.
- Andreeva I.N., Mandkhan K., Re'kina T.V., Mishustin E.N., Izmailov S.F. 1992. Effect of *Azospirillum brasilense* on formation and nitrogen-fixing activity of bean and soybean nodules. Soviet Plant Physiology. 38(5): 646-651.
- Andreeva I.N., Re'kina T.V., Izmailov S.F. 1993. The involvement of indoleacetic acid in the stimulation of *Rhizobium*-legume symbiosis by *Azospirillum brasilense*. Russian J. Plant Physiol. 40(6): 780-784.
- Antunez P.M. Goss J.M. 2005. Communication in the tripartite symbiosis formed by arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobial and legume plants. A review. In: Roots and soil management: Interactions between roots and the soil. Amercian Sco. Of Agronomy, Inc. No. 48. Wisconsin, USA. P. 199-222.
- Arshad M., Frankenberger W.T. 1991. Plant growth-regulating substances in the rhizosphere: Microbial production and functions. Advances in Agronomy. 62: 45-151.
- Augé R.M., Duan X., Ebel R.C., Stodola A.J. 1994. Nonhydraulic signalling of soil drying in mycorrhizal maize. Planta. 193: 74-82.
- Bashan Y., Holguin G., Ferrera-Cerrato R. 1996. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. I. *Azospirillum*. Terra Latinoam. 14:159-194.
- Baylis G.T.S. 1972. Minimum levels of available phosphorus for non-mycorrhizal plants. Plant and Soil. 36 (1): 233-234.
- Burdman S., Sarig S., Kigel J., Okon Y. 1996a. Field inoculation of common vean (*Phaseolus vulgaris* L.) and chick pea (*Cicer arietinum* L.) with *Azospirillum brasilense* strain Cd. Symbiosis. 21, 41-48.
- Cino D.M., Díaz A., Castillo E., Hernández J.L. 2011. Ceba vacuna en pastoreo con *Leucaena leucocephala*: algunos indicadores económicos y financieros para la toma de decisiones. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 45 (1):7-10.
- Crowley D.E., Wang Y.C., Reid C.P., Szaniszló P.J. 1991. Mechanisms of iron acquisition from siderophores by microorganisms and plants. Plant Soil 130:179-198.
- De la Garza H., Valdés M., Aguirre J.F. 1987. Effect of Rhizobial strains, Phosphorus and soil type on nodulation and growth of *Leucaena leucocephala*. Leucaena Research Reports. Vol 8. p 42-43.
- Döbereiner J., Urquiaga S., Boddey R.M., Ahmad N. 1995. Alternatives for nitrogen of crops in tropical agriculture. Nitrogen economy in tropical soil. Fertilizer Research. 42: 339-346.
- Fernández L.R., De Chávez M., Virgüez T.D. 1997. Uso de leucaena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Witt) en pastoreo restringido para la suplementación de vacas lecheras. Arch. Latinoam. Prod. Anim. 5(Supl. 1): 129-131
- Graham P.H. 2005. Biological dinitrogen fixation symbiotic. In: Sylvia, M. D., Fuhrmann, J. J., Harte, G. P. and Zuberer, A. D. (Eds). Principles and applications of soil microbiology. Second Edition. Pearson Prentice Hall., New Jersey, USA. p. 405-432.
- Haahtela K., Laakso T., Nurmiäho-Lassila E.L., Korhonen T.H. 1988. Effects of inoculation of *Poa pratensis* and *Triticum aestivum* with root-associated N₂ – fixing Klebsiella, Enterobacter and *Azospirillum*. Plant and Soil 106: 239-248.
- Hayman D.S., Mosse B. 1971. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Growth of Endogone inoculated plants in phosphate deficient soils. New Phytologist. 70: 19-27.
- Jordan C.D. 1983. Family III. Rhizobiaceae. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol I. N.R. Krieg and J. G. Holt (Eds) Williams and Wilkins. London. p. 234-256.
- Kennedy A.C. 2005. Rhizosphere. In: Sylvia, M. D., Fuhrmann, J. J., Harte, G. P. and Zuberer, A. D. (Eds). Principles and applications of soil microbiology. Second Edition. Pearson Prentice Hall., New Jersey, USA. pag 242-262.
- Mahecha L., Rosales M., Hernando Molina C., Molina J.E. 2004. Experiencias en un sistema silvopastoril de *Leucaena leucocephala*-*Cynodon plectostachyus*-*Prosopis juliflora* en el Valle del Cauca, Colombia. Agroforestería para la Producción Animal en Latinoamérica. p. 325-336.
- Martínez E., Aguirre-Medina J.F., Valdés M. 1982. Datos preliminares sobre ensayos de selección de cepas de *Rhizobium* para *Leucaena* en la Costa de Chiapas, México. XVI Reunión Latinoamericana de *Rhizobium* realizada del 24-29 de Octubre de 1982 en Lima, Perú. (Memorias).
- Martínez-Romero E., Segovia L., Martins F., Franco A.A., Graham P., Pardo M.A. 1991. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp trees. Int. J. Syst. Bacteriol. 41:417-426.
- Martínez-Toledo M.V., De la Rubia J.T., Moreno J., González-López J.T. 1988. Root exudates of *Zea mays* and production of auxinas, gibberelins and cytokinins by *Azotobacter chroococcum*. Plant and soil 110: 149-152.

- National Academy of Science. 1977. *Leucaena*. Promising forage and tree crop for the tropics. Washington, 116 p.
- Okon Y., Itzigsohn R.. 1995. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yields. *Biotechnology Advances* 13, 415-424.
- Ruiz-Torres G., Zavala-Mata G., Aguirre-Medina J.F. 2005 La inoculación de *Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit con *Rhizophagus intraradices* Schenk et Smith y *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Dobereiner y su efecto en la producción de materia seca. Memoria del primer simposio internacional de forrajes tropicales en la producción animal. Realizado del 19 al 22 de octubre en Tuxtla Gutiérrez. Chiapas. pp: 155. (Memoria).
- Ruiz O.G. 1991. Producción de materia seca del guaje *Leucaena leucocephala* al inocularse con diferentes cepas de *Rhizobium loti* en la Costa de Chiapas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chiapas. Escuela de Ciencias Químicas. Campus IV. Tapachula Chiapas. 52 p.
- Schüßler A., Walker C. 2010. The Glomeromycota: a species list with new families and genera. Published by A. Schüßler & C. Walker, Gloucester UK, 2010. online available at www.amf-phylogeny.com
- Solorio S.F.J., Solorio S.B. 2008. Manual de manejo agronómico de *Leucaena leucocephala*. *Leucaena leucocephala* (guaje) una opción forrajera en los sistemas de producción animal en los trópicos. Fundación Produce Michoacan. 44 pág.
- Tien T.M., Gaskins M.H., Hubell D.H. 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* 37: 1016-1024.
- Utkhede R.S., Koch C.A., Menzies J.G. 1999. Rhizobacterial growth and yield promotion of cucumber plants inoculated with *Phytium aphanidermatum*. *Can. J. Plant Pathol.* 21:265-271.
- Van Peer R., Niemann G.J., Schippers B. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 81:728-734.
- Zárate P.S. 1994. Revisión del género *Leucaena* en México. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México. Ser. Bot.* 65 (2): 83-162.
- Zimmer W., Roeben K., Bothe H. 1988. An Alternative explanation for plant growth promotion by bacteria of the genus *Azospirillum*: *Planta* 176: 333-342.

