

**ESTUDIO PRELIMINAR DEL COMPORTAMIENTO DE VARIEDADES DE
GUISANTE INOCULADAS CON Rhizobium leguminosarum EN GALICIA**

J. M. Amurrio
A. M. de Ron
M. Santalla
Misión Biológica de Galicia
Pontevedra
España

F. Temprano
Consejería de Agricultura y
Pesca
Alcalá del Río
Sevilla

Abstract

Preliminary study of the pea landraces performance inoculated with Rhizobium leguminosarum in Galicia.

At the Misión Biológica de Galicia (Spanish Council for Scientific Research, CSIC) in 1987 began the task of collecting, conserving and evaluating pea landraces.

The objective of this work was the descriptive study of 30 pea landraces plus two commercial elite cultivars to distinguish the most suitable pea genotypes which have the best ability to establish a good infective symbiosis with Rhizobium leguminosarum strains.

The means over each population for the traits studied: fresh and dry nodule weight/plant (g/plant) and proportion of infected plants show variability among pea varieties, which let us to classify them in four groups in relation with the infectivity: very high infectivity (greater than 0.20 g of fresh nodule weight/plant), high infectivity (between 0.1750 and 0.1585), moderate infectivity (between 0.15 and 0.0775) and low infectivity (lesser than 0.0720).

Resumen

En la Misión Biológica de Galicia (Pontevedra, España) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas desde 1987 se lleva a cabo un programa de recolección, conservación y evaluación de germoplasma autóctono de guisante (Pisum sativum).

El objetivo del presente trabajo fue el estudio descriptivo de 32 genotipos de guisante (30 locales y dos comerciales) que presenten mayor habilidad para establecer una simbiosis infectiva con cepas inoculadas de Rhizobium leguminosarum.

Las medias de los caracteres estudiados como son: masa fresca y seca de nódulos/planta (g/planta) y proporción de plantas infectadas nos indican la existencia de variabilidad entre las poblaciones, lo cual nos ha permitido clasificar las variedades de guisante en cuatro grupos según el grado de infectividad que presentan: infectividad muy alta (mayor a 0.20 g de masa fresca de nódulos/planta), infectividad alta (entre 0.1750 y 0.1585), infectividad media (entre 0.15 y 0.0775) e infectividad baja (menor a 0.0720).

1. Introducción

La capacidad de las leguminosas para fijar Nitrógeno atmosférico se conoce desde 1888, aunque desde antes se sabía que las leguminosas tenían la propiedad de enriquecer el suelo. La fijación de nitrógeno ocurre por la asociación simbiótica que establece la planta con algunas bacterias de la familia Rhizobiaceae y sólo ocurre en presencia de una o varias cepas efectivas de Rhizobium que puedan infectar la raíz y formar los nódulos (Caldwell, 1969). Si estas cepas no existen en el suelo será necesario introducirlas, y la forma más sencilla es inocular las semillas con el cultivo apropiado de Rhizobium que se conoce con el nombre de inoculante.

Se han publicado numerosos datos acerca de las cantidades de Nitrógeno atmosférico fijado por la simbiosis Rhizobium-leguminosas. En el caso del guisante, Burns y Hardy citados por Orive y Temprano (1983), reportaron una cifra de 85 kg de Nitrógeno atmosférico fijado/ha/año. Desde el punto de vista agronómico, la fijación de Nitrógeno en las leguminosas tiene un gran interés, porque es un medio económico de mantener o aumentar el contenido de Nitrógeno del suelo.

En la Misión Biológica de Galicia (Pontevedra, España), del Consejo Superior de Investigaciones Científicas a partir de 1987 se está llevando a cabo un programa de recolección, conservación y evaluación de germoplasma autóctono de guisante (Amurrio et al, 1991; Ron et al., 1991; 1992). Las evaluaciones agronómicas y de calidad física de grano y vaina deben ser complementadas con las evaluaciones de fijación de nitrógeno atmosférico, para poder seleccionar de este manera las variedades locales con la mejor combinación de todas las características (Sylvester-Bradley et al., 1987).

Una vez establecidas la importancia y el interés de la simbiosis Rhizobium-leguminosas, el objetivo del presente trabajo fue el estudio descriptivo de 32 genotipos de guisante (30 locales más dos comerciales) para consumo en fresco y vaina inmadura, con el fin de caracterizar las variedades locales que presentasen mayor habilidad para establecer una simbiosis infectiva con cepas inoculadas de Rhizobium leguminosarum.

2. Material y métodos

La caracterización de las 30 variedades locales de guisante más las dos comerciales (testigos) con mayor habilidad para establecer simbiosis infectiva con cepas inoculadas de Rhizobium leguminosarum, se llevó a cabo mediante un diseño de bloques al azar con dos repeticiones. Previamente a la siembra el grano fue tratado en seco con fungicida (50% de Captán) y repelente de aves (25% de Antraquinona). Se ha sugerido que ciertos productos fitosanitarios, aplicados a la semilla pueden inhibir fuertemente la nodulación (Sylvester-Bradley et al., 1987), por dicho motivo se tuvo que inocular el suelo, además esta metodología de inoculación aumenta la

probabilidad de que las cepas inoculadas formen una alta proporción de nódulos y presenten mayor competitividad con relación a las cepas nativas. La dosis aplicada fue de 20 kg de inóculo/ha y para una mejor distribución se mezcló el inoculante con perlita, en la proporción 1:4. El inóculo utilizado (cepa ISL 18) fue suministrado por el Centro de Investigación y Desarrollo Agrario "Las Torres y Tomejil" (Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía).

En relación a la habilidad de infectividad de las cepas inoculadas, se estudiaron tres caracteres cuantitativos como son: masa fresca y seca de nódulos/planta expresada en g/planta, y proporción de plantas infectadas. La masa fresca de nódulos rojos/planta (g/planta), es un carácter que evalúa el potencial del cultivo en la fijación del nitrógeno (Pate, 1958), puesto que la hemoglobina contenida en los tejidos bacterianos centrales de un nódulo es una indicación visual confiable de la actividad de los nódulos (Virtanen y col., 1947). Asimismo se evaluó el carácter distribución de nódulos en la raíz mediante una escala subjetiva siguiendo el descriptor de la FAO (1983). Los datos se tomaron cuando las plantas presentaban una altura media de 30 cm y se valoró sobre una muestra de siete plantas por parcela experimental.

En la Tabla 1, se presenta una breve descripción de caracteres agronómicos y de calidad física de grano y vaina de las variedades estudiadas, con el fin de ver si existe alguna relación entre éstos con los del Rhizobium.

3. Resultados y conclusiones

Las medias de las poblaciones en los diferentes caracteres estudiados (Tabla 1) nos indican la variabilidad existente entre las 30 variedades locales de guisante más los dos testigos comerciales. Esta primera evaluación nos da la posibilidad de identificar poblaciones de guisante susceptibles a la infectividad por las cepas inoculadas para formar nódulos. Se sabe que la infectividad está determinada genéticamente por ciertos plásmidos bacterianos (Palomares et al., 1978), así como por las lectinas que son proteínas vegetales capaces de aglutinar específicamente al Rhizobium o a su polisacárido (Dazzo y Hubbell citados por Orive y Temprano, 1983). Con relación a este parámetro se pueden clasificar las variedades estudiadas en cuatro grupos, aquellas que presentan una muy alta infectividad (mayor a 0.20 g de masa fresca de nódulos/planta), infectividad alta (entre 0.1750 y 0.1585), infectividad media (entre 0.15 y 0.0775) e infectividad baja (menor a 0.0720). Asimismo, la masa fresca de nódulos/planta presenta una estrecha correlación con la masa seca de nódulos/planta ($r=0.71^{***}$).

En relación al carácter proporción de plantas infectadas, no presenta ninguna correlación con la masa fresca ni con la masa seca de nódulos/planta. Este parámetro de evaluación es muy subjetivo, ya que la nodulación de las leguminosas al ser un fenómeno tan complejo se ve influida por un gran número de

factores tanto ambientales como genéticos de ambos simbioses (Orive y Temprano, 1983).

La formación de nódulos parece que tiene lugar sólo en determinados puntos susceptibles a lo largo de la raíz, y que sólo están disponibles a la infección durante un cierto periodo de tiempo (Purchase y Nutman, 1957). Con relación a este carácter (distribución de nódulos en la raíz) se pudo observar que las variedades con nodulación media y baja presentan en su generalidad una distribución dentro de la escala (FAO, 1983) con un valor igual a "8", lo cual corresponde a una infectividad sólo en las raíces secundarias.

Asimismo, se realizó un estudio de las posibles correlaciones entre los caracteres de infectividad y caracteres de calidad física de grano y vaina. En relación a los resultados se puede concluir que no existen correlaciones significativas entre estos parámetros.

El hecho de que existan diferencias entre variedades en relación a su habilidad para establecer una simbiosis infectiva con cepas inoculadas de Rhizobium leguminosarum, nos permitiría la posibilidad de identificar variedades locales hortícolas de guisante con buenas características agronómicas y de calidad física y nutritiva, así como fijadoras de nitrógeno atmosférico que es la forma más económica de enriquecer el suelo.

Referencias

Amurrio, J. M.; A. M. de Ron, P. Casquero. 1991. Estudio de la diversidad genética de poblaciones gallegas de guisante. Actas de Horticultura 8:227-233.

Caldwell, B. E. 1969. Initial competition of root nodule bacteria on soybeans in a field environment. Agron. J. 61:813-815.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1983. Technical handbook on symbiotic nitrogen fixation (Legume/Rhizobium). Rome, Italy.

Orive, R. y F. Temprano. 1983. Simbiosis Rhizobium-leguminosa. En Cubero J. J. y M. T. Moreno (Eds.). Leguminosas de grano. Ediciones Mundi Prensa. Madrid. pp. 69-94.

Palomares, A.; E. Montoya, J. Olivares. 1978. Introduction of polygalacturonase production in legume roots as a consequence of extrachromosomal DNA carried by Rhizobium melioli. Microbios 21:33-39.

Pate, J. S. 1983. Arveja. En Evans, L. T. (Ed.). Fisiología de los cultivos. Editorial Hemisferio Sur. Argentina. pp. 209-244.

Purchase, H.; P. Nutman. 1957. Studied on the Physiology of nodule formation. VI: The influence of bacterial numbers in the Rhizosphere on nodule initiation. An. Bot. 21:439-454.

Ron, A. M. de, J. M. Amurrio, P. Casquero. 1992. Documentation of Pisum sativum collections based on quantitative traits. International Symposium and World Congress on the Preservation and Conservation of Natural History Collections. Madrid, España.

Ron, A. M. de, R. Lindner, R. A. Malvar, A. Ordás, J. J. Baladrón, J. Gil. 1991. Germplasm collecting and characterization in the north of the Iberian Peninsula. Plant Genetic Resources Newsletter 87: 17-19.

Sylvester-Bradley, R.; J. Kipe-Nolt, D. Harris. 1987. Simbiosis Leguminosa-Rizobio: Evaluación, selección y manejo. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. Serie: O4SL-01.03.

Virtanen, A.; J. Jorma, J. Erkama and A. Linnasalmi. 1947. On the relation between nitrogen fixation and leghaemoglobin content of leguminous root nodules. Acta. Chem. Scan. 1:90-11.

Tabla 1. Medias de caracteres agronómicos e indicadores de infectividad de cepas de *Rhizobium leguminosarum*, en 30 variedades locales de guisante más dos testigos comerciales.

Formula	Masa fresca nódulos (g)/planta	Masa seca nódulos (g)/planta	Plantas noduladas %	Distribución nódulos en la raíz	Longitud vaina (mm)	Anchura vaina (mm)	Masa fresca (g)	Diámetro semilla (mm)	Masa fresca (g)
INFECTIVIDAD MUY ALTA									
PSM-0087	0.3015	0.0350	33.03	2 - 8	65.0	13.31	1.57	7.73	12.15
PSM-0022	0.2265	0.0369	66.66	3 - 8	81.6	17.35	2.03	9.70	22.05
PSM-0064	0.2045	0.0410	74.44	3 - 8	111.2	19.51	4.62	9.86	19.85
INFECTIVIDAD ALTA									
PSM-0025	0.1750	0.0350	22.50	3 - 8	74.0	16.82	2.63	10.12	25.35
PSM-0113	0.1725	0.0400	90.00	3	113.5	23.79	5.37	10.18	26.45
PSM-0057	0.1635	0.0217	37.14	8	76.8	18.07	3.03	9.53	26.40
PSM-0099	0.1585	0.0350	55.00	3 - 8	66.3	14.52	1.73	10.07	28.20
INFECTIVIDAD MEDIA									
CAPUCHINO	0.1500	0.0313	28.18	3 - 8	128.4	25.54	7.83	11.45	30.80
PSM-0115	0.1475	0.0250	29.16	3	95.4	21.61	3.80	10.19	24.45
PSM-0114	0.1440	0.0175	32.05	3	92.5	17.55	2.64	11.33	27.50
PSM-0066	0.1430	0.0272	72.22	3 - 8	96.9	17.76	3.06	11.75	28.10
PSM-0019	0.1125	0.0300	66.66	3 - 8	88.7	15.54	2.70	8.89	18.65
PSM-0124	0.1115	0.0175	62.50	2 - 3	104.5	22.53	5.33	11.56	27.75
PSM-0094	0.1110	0.0167	43.34	8	59.6	15.26	1.87	9.70	19.13
PSM-0061	0.1010	0.0150	39.39	8	82.3	15.95	2.49	9.55	23.40
PSM-0147	0.0990	0.0209	40.91	8	76.1	16.38	2.23	10.55	24.50
PSM-0084	0.0915	0.0260	65.00	8	72.7	16.03	1.99	10.00	23.45
PSM-0024	0.0885	0.0241	82.85	8	83.2	16.30	3.18	10.16	23.15
PSM-0112	0.0875	0.0159	58.34	8	86.2	17.81	2.66	10.56	28.15
PSM-0202	0.0860	0.0167	64.28	8	66.4	14.13	1.81	8.81	17.40
PSM-0014	0.0800	0.0138	45.24	8	73.7	16.29	2.45	10.03	21.25
PSM-0050	0.0775	0.0125	23.18	8	73.5	14.74	1.73	10.04	22.80
INFECTIVIDAD BAJA									
PSM-0121	0.0720	0.0156	55.12	8	87.8	18.85	3.17	9.90	24.10
PSM-0127	0.0710	0.0110	85.71	8	61.2	14.78	1.63	9.50	20.05
PSM-0028	0.0705	0.0083	47.92	3	67.3	15.31	1.90	10.91	25.89
PSM-0146	0.0615	0.0108	47.28	8	76.8	17.31	2.70	10.10	24.05
PSM-0016	0.0600	0.0166	27.08	8	71.3	15.44	1.94	10.19	20.20
PSM-0203	0.0505	0.0135	60.26	8	88.3	19.59	4.03	11.43	29.90
QUANTUM	0.0415	0.0125	32.50	8	70.6	15.26	2.22	10.10	22.35
PSM-0038	0.0400	0.0083	87.50	8	90.4	18.64	3.56	10.89	25.22
PSM-0085	0.0325	0.0075	30.00	8	66.5	14.41	1.58	9.66	19.70
PSM-0017	0.0300	0.0083	42.50	8	76.3	17.67	2.63	10.37	31.25