

Nota de Investigación: Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la nodulación de arveja en un suelo andisol de La Angelina, Cartago- Costa Rica

Paola Brenes Rojas¹, Juan José Cordero², Wagner Peña Cordero³

Universidad Estatal a Distancia, Vicerrectoría de Investigación, Programa Ingeniería Agronómica, Cátedra Gestión Sostenible del Suelo, Sabanilla, San José, Costa Rica; paolarjs@gmail.com

1. Universidad Estatal a Distancia, TFG Bachillerato en Ingeniería Agronómica; jjosecj@gmail.com
2. Universidad Estatal a Distancia, Vicerrectoría de Investigación, Programa Ingeniería Agronómica, Cátedra Gestión Sostenible del Suelo, Sabanilla, San José, Costa Rica; wpena@uned.ac.cr †

RESUMEN

Título: Caracterización de la nodulación de arveja bajo tres tratamientos en La Angelina Cartago. **Introducción:** La arveja (*Pisum sativum L.*), es una leguminosa que realiza un aporte importante nutricional y biológico al ecosistema, debido a la simbiosis que realiza con las bacterias *Rhizobium*, y su aporte al ecosistema. Se plantea la necesidad de evaluar la nodulación del cultivo de arveja (*Pisum sativum L.*), bajo tres tratamientos en la región de Alto de Ochomogo, de Cartago. **Método:** Se escogieron 18 plantas de arveja (*Pisum sativum L.*). Para la evaluación se utilizó 3 tratamientos distintos (6 por tratamiento), el tratamiento A, en el cual es un suelo tipo arena; el tratamiento B (suelo andisol), en el cual se le agregó fertilizante y en el caso del tratamiento C se utilizó como testigo. **Resultados:** La mayor nodulación activa se obtuvo en el tratamiento C con un 79,72% Además, en el tratamiento A se obtuvo una nodulación inactiva de un 28,84%, lo cual refleja que la proteína llamada *leghemoglobina* no se encuentra trabajando de la manera idónea, debido a la limitación en la materia orgánica en el suelo. **Conclusión:** Se concluye que ante la presencia de nitrógeno se ve disminuido con el proceso de activación de nódulos, por ende, el número de nodulaciones es menor y la producción de biomasa se ve afectada.

Palabras clave: Arveja, Nitrógeno, Nodulación, *Rhizobium*, Fijación biológica de Nitrógeno.

ABSTRACT

Title: Characterization of pea nodulation under three treatments in La Angelina Cartago. **Introduction:** The pea (*Pisum sativum L.*), is a legume plant that makes an important nutritional and biological contribution to the ecosystem, due to the symbiosis it performs with *Rhizobium* bacteria, which fix nitrogen to the plant, however, agriculture has a Great need to implement sustainable technologies that improve the biological area and the environment. Hence the need to evaluate the nodulation of pea (*Pisum sativum L.*) cultivation, under three treatments in the Alto de Ochomogo region of Cartago. **Methods:** Eighteen pea plants (*Pisum sativum L.*) were chosen to carry out the evaluation with 3 different treatments (6 per treatment), treatment A, in which it is sand-type soil; treatment B (andisol soil), in which fertilizer of 58 grams was added, fractionated in 3 applications, and in the case of treatment C, it was used as a control in the trial to sow the seed, but no type of fertilizer was added. **Results:** In the process of obtaining results, it was obtained that the highest active nodulation in treatment C with 79.72% reflecting and with an inactivity nodulation of 21.53%. In addition, in treatment A it was obtained as a result of the active nodulation of 71.16%, inactive nodulation of 28.84% in the amount of nodulation, which reflects that the protein called leghemoglobin is not working in the ideal way, due to the limitation in organic matter in the soil. Likewise, in treatment C (control), a greater root mass (2.34 ± 1.01), air (5.52 ± 2.01), and nodules (1.34 ± 4.3063) are obtained. **Conclusions:** It is concluded that in the presence of nitrogen it is diminished with the process of activation of nodules, therefore, the number of nodulations is less, and the production of biomass is affected.

Key words: Pea, Nitrogen, Nodulation, *Rhizobium*, Biological nitrogen fixation.

Introducción

A lo largo de la historia humana, la arveja (*Pisum sativum* L.) ha sido considerada como un cultivo de grano muy útil en la alimentación, por ser una leguminosa hortícola de alto contenido de proteína (6,3 % en fresco y 24,1% en seco) (Mera, Kehr, Mejías, & Bifani, 2007, p 343). Esta planta no solo tiene propiedades nutricionales, sino que también es utilizada en la restauración de suelos, por su capacidad de fijación de nitrógeno (Urzúa, 2005, p 133). En los sistemas de producción hortícola a nivel nacional y en la zona de Cartago es utilizado a final de la estación lluviosa como cultivo de rotación por ser considerado de baja demanda de nutrientes y muy resistente al periodo del inicio del verano, pero es poco conocido por sus capacidades de fijar nitrógeno y capacidad de ser una especie multipropósito.

Esta legumbre tiene la capacidad de fijar nitrógeno, debido a la asociación simbiótica que realiza la bacteria el género *Rhizobium*, la cual infecta a las raíces y es capaz de transformar el N atmosférico del espacio poroso del suelo a formas más asimilables para la planta. Según estudios de Urzúa (2005, p 133), para la arveja se ha cuantificado una capacidad de fijación de alrededor de 50-270 kg de N/ha, la cual es menor comparado con otras especies leguminosas, por lo que requiere de una fertilización nitrogenada para mejorar sus rendimientos (Ghiocel, Dragomir, Schipor & Moraru, 2012, p 52).

Existe toda una promoción en los sistemas de producción agrícola de implementar tecnologías sostenibles que mejoren la biología del suelo y así mismo evaluar la disponibilidad y exigencias de nutrimentos que faculten a la planta de un desarrollo adecuado (Tay, 2015). Sin embargo, se desconoce los efectos de los compuestos inorgánicos al suelo en los procesos biológicos del agro ecosistema. Es por eso que nace la necesidad de estudiar las respuestas de los fertilizantes sintéticos, en relación con el beneficio de la fijación biológica de nitrógeno (FBN), en especial de un cultivo de la arveja que tiende a presentar bajos rendimientos y poca capacidad de fijación de nitrógeno.

Materiales y Métodos

Área de Estudio: El área se encuentra en Finca La Angelina, localizada en la provincia de Cartago, en el cantón Cartago, distrito de Llano Grande. Al este con Quitcot, al oeste con los Ángeles de Llano Grande, al norte La Argelina, al sur Ochomogo; corresponde la ubicación geográfica al Norte 09,92843 y Oeste -83, 93007. El tipo de vegetación corresponde a bosque húmedo montano bajo (bh.MB), debido a que la precipitación oscila entre 1400 y 2000 mm por año y presenta un periodo seco de aproximadamente 2 a 4 meses; además, la condición natural del bosque de esta zona de vida es de baja altura, con dos estratos, poco denso, con abundancia de epífitas, siempre verde.

Metodología: El ensayo desarrollado es de tipo experimental, establecido a campo abierto. En la parcela de estudio se establecieron tres tratamientos con seis repeticiones por tratamiento (18 repeticiones). Se utilizaron potes de 22 cm de diámetro y 24 cm de altura, en los cuales fueron sembradas las plantas de arveja 3 semillas por pote y luego fue raleado a una planta/pote. El suelo utilizado para llenado de los potes fue el suelo de la finca (orden andisol, Franco arenoso con 1 % de contenido de materia orgánica) y también se realizó un tratamiento con arena. Se le determinó biomasa aérea, radical y nódulos de cada planta. Los nódulos se clasificaron de acuerdo con las siguientes características: tamaños, coloración y peso, con el fin de determinar el índice de nodulación; asimismo, se catalogaron en activos (nódulos con presencia de coloraciones rojas o rosadas) e inactivos (nódulos con presencia de coloraciones blancas o verdes). En el establecimiento del primer tratamiento se utilizó arena sustrato control, previamente desinfectado, para los siguientes dos fue utilizado suelo andisol del sitio de estudio (cuadro 1).

CUADRO 1.
Tratamientos del ensayo

Tratamientos	Descripción
A	• Arena
B	• Suelo tipo andisol colectado de la finca, con aplicación de 58 g urea/planta fraccionado en 3 momentos
C	• Suelo andisol

En el establecimiento del ensayo, los potes del tratamiento A se llenaron con 12,1 kg de arena y aquellos correspondiente al tratamiento B y C se llenaron con 8,2 kg de suelo. Estos sustratos fueron analizados en los laboratorios de CORBANA en Pococí y del INTA en Ochomogo-Cartago. Las semillas de arveja utilizadas son del tipo "Fudeth " (rastrera), las cuales se sembraron a razón de 5 plantas /pote; tras el raleo, se evaluaron un total de 18 plantas desde el 11 de septiembre del 2015.

En el tratamiento B, se aplicó 19,5 g de urea como fertilizante nitrogenado cada 15 días hasta los 45 después de siembra (dds) y, para todos los tratamientos, se aplicó microelementos de forma foliar. El muestreo de plantas se realizó hasta floración (55dds), se extrajo la materia verde de toda la planta, incluyendo el sistema radical. Este último, se procedió la separación de nódulos, clasificándolos por tamaño y coloración (activo e inactivo), también se contempló el peso y se determinó el índice de modulación según la metodología establecida por Ghiocel, C., Dragomir, N., Schipor, R., & Moraru, N (2012). El análisis estadístico se realizó mediante el programa INFOSAT.

Resultados

Tras la valoración de los nódulos, se determinó aquellos activos e inactivos por cada planta y en cada repetición del ensayo. Para ello, también se consideró las nudosidades y su grado proporcional según el muestreo (cuadro 2). Los resultados indican que la cantidad nódulos que fueron recolectados activos en el tratamiento C, fue mayor que los tratamientos A y B, y repitiéndose dicha condición en la cantidad de nódulos activos.

Además de las anteriores características, de cada planta muestreada fue determinada la cantidad de biomasa radicular, de la parte aérea o foliar y el peso de la biomasa de nódulos observados en cada sistema radicular, con la cual también se estimó la significancia entre las repeticiones de estos resultados (cuadro 3). En ese análisis se observa que hay diferencias estadísticamente significativas, tanto para la biomasa aérea, radicular y de nódulos. La biomasa área varió entre 2,60 y 5,52 gramos por planta, siendo el tratamiento C que obtuvo mayor contenido de la biomasa aérea, siendo estadísticamente significativo ($p=0032$, $F=865$). La biomasa radicular varió entre 0,42 a 2,34 gramos por planta, siendo el tratamiento C, el que obtuvo mayor biomasa ($p=0004$, $F=13,60$), la biomasa de nódulos varió entre 0,62 y 1,34, donde el tratamiento C tuvo el mayor de biomasa nodular ($P=0008$, $F= 12,03$).

Otras variables relacionadas con estas características de la nodulación fueron aquellas relacionadas con las nudosidades, de las cuales se obtuvo el índice de nodulación (cuadro 4). El índice de nodulación muestra, que el tratamiento C fue el que obtuvo un mayor valor debido, a que el tamaño y número de noducidades para los tratamientos evaluados. El valor de los tratamientos para A de 17 y en B es de 16, 67 y el valor fue tratamiento

C. Hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos A, B comparado con C (P=0,0001y F=49,46).

CUADRO 2.
Nodulación e inactiva de la arveja cultivada

Tratamiento*	Nódulos /planta		Nodosidades Nódulos activos (cantidad de nódulos/planta)	Nódulos Inactivos
	Activos	Inactivos		
A	6	2	6,17	2,5
	5	3		
	6	2		
	7	3		
	6	3		
	7	2		
B	6	2	6,67	1,83
	7	3		
	8	1		
	6	2		
	6	1		
	7	2		
C	9	1	9,83	2,5
	8	4		
	11	6		
	9	1		
	13	1		
	9	2		

*A= Arena, B= sustrato suelo andisol con fertilización, C= sustrato suelo control.

CUADRO 3
Biomasa: radicular, área y nodulación de la arveja cultivada

Tratamientos*	Biomasa radicular	Biomasa aérea	Biomasa de nódulos
	Gramos/ planta		
A	0,42 ± 0,48 a	2,60 ± 0,48 a	0,02 ± 0,0012
B	0,80 ± 0,34 a	2,18 ± 0,77 a	0,02 ± 0,6777
C	2,34 ± 1,01 b	5,52 ± 2,01 b	1,34 ± 4,3063

*A= sustrato arena, B= sustrato suelo andisol con fertilización, C= sustrato suelo control.

En negrita, letras diferentes significa que existe una diferencia estadísticamente significativa (p<0,05).

Discusión

Como se ha logrado observar, si hay diferencias en el comportamiento de la nodulación entre los tres tratamientos, posiblemente debido a la naturaleza del sustrato que, como bien lo indica Peña (2017), y los resultados resaltados podemos referirlos a la necesidad de un suelo de calidad. La calidad de un suelo se nota reflejada en aquellas propiedades relacionadas con las funciones básicas, como la capacidad de filtrar, producir y degradar los compuestos orgánicos, lo que favorece la mineralización y, por supuesto, la disponibilidad de nutrientes, principalmente nitrógeno. En este trabajo, es necesario relacionar la calidad con la capacidad del sustrato en proveer los nutrientes a través de la actividad microbiana, en este caso específicamente como respuesta de *Rhizobium* que está asociada simbióticamente a las raíces de la arveja. Para ello, se analiza la cantidad de nódulos, la biomasa y las relaciones entre las características, que está calculada en el índice de nodulación.

El análisis de la cantidad de nódulos activos arroja claramente un impacto del uso de fertilizante sobre la actividad simbiótica afectando tamaño, cantidad, número y coloración los nódulos infectados con *Rhizobium* sp. Según Paredes (2013), el nódulo tiene la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico que hay en el espacio poroso del suelo por un periodo determinado, después del cual esta actividad decrece dando lugar a la lisis y luego la muerte de este, sin embargo, en este proceso intervienen muchos factores como las condiciones climáticas y edáficas. En el estudio es evidente el efecto de la fertilización y del tipo de material edáfico en el que se desarrolla la planta para exista una adecuada infección de las bacterias y por ende una adecuada actividad para que suceda la fijación del nitrógeno. Esto se recalca con los resultados de del conteo de nódulos y valoración de actividad por coloración. Como consecuencia de la aplicación de urea en el tratamiento B, se infiere que las sales fertilizantes en el suelo inhiben el proceso de la formación de nódulos, debido que el nitrato tiene un efecto sobre la enzima llamada glicoproteína, que limita el reconocimiento de los pelos radicales de la planta (García, 2011, p 179). Aunado a lo anterior, es importante recalcar la cantidad y calidad de la materia orgánica del suelo puede marcar la diferencia, pues esta depende de la actividad microbiana y por ende de la fijación biológica del nitrógeno y de otros nutrientes, reafirmado por Pommeresche y Hansen (2017) que indican que el contenido de nutrientes en el suelo, la estructura local del suelo y su aireación, influyen así mismo en la distribución y el tamaño de los nódulos. Es claro que para una adecuada actividad simbiótica en la planta se debe iniciar con la infección de las bacterias en las raíces, en donde contribuirá posteriormente a la liberación de compuestos de origen del carbono que ayuden sintetizar el nitrógeno (N) atmosférico y en la formación del nódulo (Mayz, 2004, p 4).

En relación con el tamaño de los nódulos y la cantidad Pommeresche y Hansen (2017) mencionan que cuando la cantidad de *Rhizobium* sp es pequeña, el bajo número de nódulos por planta se compensa con un aumento en el tamaño del nódulo, sin embargo, para la arveja esto no se cumplió porque evidentemente si hubo un efecto claro en mayor cantidad y mayor tamaño de nódulos.

También es claro el efecto sobre la biomasa de los nódulos atribuido a un mejor proceso fotosintético, almacenando por el carbono (C) en los tejidos celulares de la planta, en este proceso fotosintético requiere nitrógeno (N) para formar parte de la molécula estructural de la fotosíntesis, este es aportado por materia orgánica existente en el suelo, aunado a la infección realizada, por las bacterias de la Fijación Biológica de nitrógeno, debido a que hace alusión a que es uno de los componentes más relevantes, en el proceso de la fotosíntesis en las plantas (Maiz, 2004, p 2). Aquí se reconoce la importancia de esta relación simbiótica en la que, mediante la fijación biológica de nitrógeno, las leguminosas utilizan nitrógeno en forma de nitrógeno (NO_3^-), como resultado de la oxidación del nitrógeno de amonio (NH_4^+) como fuente de los fertilizantes minerales, entre nitrógeno orgánico y que se traduce en nutrientes para un adecuado desarrollo de biomasa (Ghiocel, Dragomir, Schipor, & Moraru, 2012, p 52).

El índice de nodulación se encuentra en un intervalo entre 12 a 18, donde el intervalo inferior se refiere a poca nodulación e intervalo superior se refiere a que la nodulación posee una gran eficacia en la fijación biológica de nitrógeno, por lo que de acuerdo con el tratamiento C, se obtuvo un índice de 10,67, para los tratamientos A y B, se obtuvieron un índice de 4, para el caso de ambos tratamientos muy por debajo al resultado que obtenida en el tratamiento C, de acuerdo con los resultados que evidencian que ninguno de los tratamientos analizados no alcanzan los intervalos propuestos en el índice en el nodulación (Ghiocel, et al, 2012).

Con relación al índice de nodulación los resultados del estudio indicado que la presencia en el suelo de nitratos por largos periodos de niveles de los desarrollos de la nodulación y la actividad nitrogenasa. Se debe recordar que este índice es utilizado para valorar actividad microbiana en el suelo debido a que en el estudio se le aplicó nitrógeno (N) fraccionado, que fue aplicado durante el desarrollo de la planta de la arveja siendo este afectado por las infecciones del *Rhizobium*. Así mismo la poca cantidad de materia orgánica en el suelo, se da una inhibición en el índice de nódulos. Colores rojizos o marrón se observaron en el tratamiento C, donde el suelo no fue fertilizado, por lo que se obtuvo proporcionalmente la mayor nodulación. Como indicador, esta coloración se debe a la proteína llamada leghemoglobina, que regula oxígeno en la reacción química del catión Fe^{+3} en Fe^{+2} , por eso la coloración rosada en el exterior y rojiza en el interior del nódulo activo; por el contrario, si no se produce el proceso de oxidación de forma correcta en el suelo es posible que el nódulo inactivo presente una coloración verde o gris (Méndez & Bertsh, 2012).

Como conclusión, es importante destacar el papel que juega biota del suelo y las diferentes propiedades del sustrato en la capacidad de la planta en fijar los nutrimentos, como el nitrógeno a través de la FBN con *Rhizobium*. Además, es claro el efecto de la aplicación de fertilizantes nitrogenados en las arvejas inhiben la actividad de la fijación microbiana por lo que es necesario, controlar el uso de estos fertilizantes en este tipo de cultivos.

Es importante resaltar que el campo del estudio de la relación simbiótica de la bacteria de *Rhizobium* y el proceso de fijación biológica de nitrógeno es muy complejo y que hay un sin número de agentes que intervienen pero que la investigación en el campo es necesaria para comprender su comportamiento.

Agradecimientos

Al Instituto Nacional de Transferencia Tecnológica Y Agropecuaria (INTA), y al laboratorio de CORBANA por su ayuda en la realización de los análisis.

Referencias

- García, S. C. (2011). Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. Cuadernos del Tomás, 1 (3), 173-186.
- Ghiocel, C., Dragomir, N., Schipor, R., & Moraru, N. (2012). Impact of nitrogen fertilization on nodulation capacity and nitrogen fixation in fodder peas (*pisum arvense* l.). Research Journal of Agricultural Science, 44 (4), 52- 56.
- Méndez, R. 2016. Finca Brenes. Atlas digital, Costa Rica. La Angelina, Cartago. Esc 1:60000
- Mayz-Figueroa, J. (2004). Fijación Biológica de Nitrógeno, Revista Científica UDO Agrícola, 4 (1),1-20.
- Méndez, J. C., & Bertsh, F. (2012) Guía para la interpretación de los suelos de Costa Rica. San José Costa Rica: Centro de Investigaciones Agronómicas UCR.
- Mera, M., Kehr, E., Mejías, J., Ihl, M., & Bifani, V. (2007). Arvejas (*Pisum sativum*) de Vaina Comestible Sugar Snap: Antecedentes y Comportamiento en el Sur de Chile. Agricultura técnica, 6(4), 343-352.
- Paredes, M. C. (2013). Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas. Tesis Ing. En producción agropecuaria. (tesis inédita de licenciatura). Universidad Católica de Argentina, Buenos Aires, Argentina
- Peña, W. (2017). Edafología del Trópico. San José Costa Rica: EUNED. 228 pp
- Pommeresche & Hansen (2017): Examinando la actividad de los nódulos en raíces de leguminosas. FertilCrop Documento técnico. Recuperado de www.fertilcrop.net
- Tay, J. (2015.) Sistemas de producción recomendados para Canola, Lupino, y Arveja. Recuperado de <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR36488.pdf>.
- Urzúa, H. (2005). Beneficios de la Fijación Simbiótica de Nitrógeno en Chile, Revista Ciencia e Investigación Agraria, 32 (2), 133-150.