

ESTUDIO DE LA TURBA COMO PORTADOR PARA LA PRODUCCION DE INOCULANTE A BASE DE *Azospirillum*

Isora González¹ ♦ y Ana J. Rondón²

¹ Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"
Matanzas, Cuba

² Centro de Estudios Biotecnológicos. Facultad de Agronomía
Universidad de Matanzas

En el presente trabajo se realizó un estudio de la turba como portador en la producción de inoculante, para lo cual se empleó la cepa K-19 de *Azospirillum* y diferentes tipos de turba: rubia, intermedia y parda, provenientes de la Ciénaga de Zapata, provincia de Matanzas. Se utilizó un diseño totalmente aleatorizado con quince réplicas. Se determinó el número de células de *Azospirillum* por unidades formadoras de colonia por gramos de turba (ufc/g) durante 6 meses de almacenamiento. La turba parda resultó la de mayor viabilidad, con un título de 1.10^6 ufc/g. Se sugiere el estudio de nuevas formulaciones de inoculantes.

Palabras claves: *Turba, inoculación, Azospirillum*

Peat was studied as an inoculant production holder using K-19 *Azospirillum* strain and different types of peat: yellow, medium color and brown, coming from Ciénaga de Zapata, Matanzas province. A complete randomized design and 15 replications was used. Cell *Azospirillum* number per colony forming units/peat grames (cfu/g) was determined after 6 months of storagement. The greater viability was found with brown peat having 1.10^6 cfu/g. The study of new inoculant formulations is suggested.

Additional index words: *Peat, inoculation, Azospirillum*

A las bacterias del género *Azospirillum* se les atribuyen propiedades fisiológicas y morfológicas, tales como: quimiotaxis, aerotaxis, acumulación de poli-β-hidroxi-butarato y nitro fijación, así como la capacidad de producir sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal (Hartmann y Zimmer, 1994).

El uso del *Azospirillum* como inoculante ha sido informado por Bashan y Levanony (1990) y señalado por Fages (1994) como mejorador del crecimiento y la productividad de las plantas.

En estudios realizados por Munévar y Graham (1977) se informa el empleo de diferentes tipos de soporte (turba, cachaza y carbón) para la producción de inoculantes. Dentro de los más utilizados se encuentra la turba, debido a su elevada capacidad de retención de agua y su contenido de nutrientes.

De acuerdo con lo antes expuesto, el trabajo tuvo como objetivo el estudio de la turba como portador para la producción de inoculante.

MATERIALES Y METODOS

Para este trabajo se utilizó la cepa K-19 de *Azospirillum* y tres tipos de turba como portador: rubia, intermedia y parda, provenientes de la Ciénaga de Zapata, provincia de Matanzas. Las características de pH y humedad se muestran en la tabla 1.

El secado de la turba se realizó al sol y al aire y posteriormente en la estufa a una temperatura menor que 100°C. Los materiales fueron molidos y pasados por un tamiz de 200 mesh. Para su esterilización, los portadores se autoclavearon a una temperatura de 121°C por una hora durante 3 días consecutivos, con 24 h de reposo entre un día y otro.

Los inoculantes se prepararon a partir de la adición de un cultivo líquido, el cual se inició con la siembra del microorganismo en medio de crecimiento (Okon, Albrecht y Burris, 1977) en agitación a 180 r/min durante 72 h a una temperatura de 35°C, con una concentración final de 10^7 ufc/g.

♦ Actualmente labora en la Facultad de Agronomía, Universidad de Matanzas

El cultivo líquido se agregó por inyección hasta lograr 40-60 % de humedad en los diferentes portadores.

La población de *Azospirillum* se determinó durante 6 meses. Los conteos de células se realizaron por el método de conteo de viables en placas Petri, propuesto por Miles y Misra y descrito por Vincent (1975). Se tomaron diluciones desde 10^6 hasta 10^7 con quince réplicas y se utilizó un diseño totalmente aleatorizado. Se empleó la media para comparar las diferencias entre los portadores.

Tabla 1. Valores de pH y humedad de los portadores.

Turba	pH	Humedad inicial (%)	Humedad final (%)
Rubia	5,2	70	18,04
Intermedia	6,7	70	15,46
Parda	6,9	70	18,08

RESULTADOS

La tabla 2 muestra la supervivencia del *Azospirillum* sobre diferentes portadores de turba durante el almacenamiento. Después de 7 días de aplicación, se observó que la turba parda, la intermedia y la rubia mantuvieron una concentración bacteriana de 10^7 . Además se apreció a los 30 días que la concentración del microorganismo decreció a 10^6 ufc/g en los portadores intermedia y rubia; mientras que en la parda se mantuvo en el orden de 10^7 ufc/g.

A los 90 días la supervivencia del microorganismo no se detectó en la turba rubia y en el resto de los portadores continuó la pérdida de la viabilidad.

Después de 6 meses de almacenamiento, se apreció que solamente la turba parda mantuvo la presencia del *Azospirillum*.

Tabla 2. Dinámica de supervivencia del *Azospirillum* en diferentes portadores de turba durante el almacenamiento.

Turba	7 días	30 días	90 días	180 días
Rubia	$5,2 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^6$	ND	ND
Intermedia	$2,5 \cdot 10^7$	$5,0 \cdot 10^6$	$2,0 \cdot 10^6$	ND
Parda	$5,2 \cdot 10^7$	$2,1 \cdot 10^7$	$6,0 \cdot 10^6$	$1,0 \cdot 10^6$

ND No detectable

DISCUSION

El estudio de la turba como portador sobre la dinámica de supervivencia del *Azospirillum* mostró que después de 7 días los portadores estudiados mantenían una concentración bacteriana de 10^7 ufc/g, lo cual pudiera deberse a la habilidad que posee la turba para proteger las bacterias contra la sequía y otras condiciones adversas (Roughley, 1988). Efectos similares se notaron a los 30 días de inoculación de la turba parda, que mantuvo una concentración de 10^7 ufc/g; mientras que en las turbas intermedia y rubia se redujo la población.

Se apreció además que a los 90 días en la turba rubia no se detectó la presencia de *Azospirillum*, lo cual pudiera estar relacionado con la influencia del pH en este portador. En este sentido Pynenborg, Valenzuela, Aguirre, Prado, Oller y Barba (1994) plantearon la necesidad de la neutralización de la turba, motivado por la influencia determinante del pH con relación a la supervivencia de las bacterias.

Además, pudo precisarse que la turba parda fue el único portador que mantuvo la viabilidad del microorganismo durante los 6 meses de almacenamiento, aunque sus concentraciones no alcanzaron los niveles requeridos, lo cual indica que la turba es un portador menos adecuado para el caso del *Azospirillum*; este resultado coincide con lo señalado por Fages (1994), quien informó que la mayor supervivencia del *Azospirillum* fue observada en células bacterianas micro-encapsuladas en alginato.

Los resultados del presente trabajo indican que de los tres portadores analizados la turba parda resultó el único con posibilidad de mantener la viabilidad del *Azospirillum* a los 180 días, a pesar de que las concentraciones del microorganismo no fueron las requeridas para ser usado como inoculante, y que las turbas

intermedia y rubia no presentaron un mínimo de condiciones para la supervivencia del *Azospirillum*. Se sugiere el estudio de nuevas formulaciones de inoculante.

REFERENCIAS

- BASHAN, Y. & LEVANONY, H. 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. **Can. J. Microbiol.** 36:591
- FAGES, J. 1994. *Azospirillum* inoculant and field experiment. In: *Azospirillum* plant associations. (Ed. Y. Okon). CRC Press, Inc. USA. p. 87
- HARTMANN, A. & ZIMMER, W. 1994. Physiology of *Azospirillum*. In: *Azospirillum* plant associations. (Ed. Y. Okon). CRC Press, Inc. USA. p. 15
- MUNEVAR, F. & GRAHAM, P.H. 1977. Supervivencia de *Rhizobium trifolii* en tres portadores. **Revista ICA.** 12:225
- OKON, Y.; ALBRECHT, S.L. & BURRIS, R.H. 1977. Methods for growing *Spirillum lipoferum* and for counting it in pure culture and in association with plants. **Appl. Environ. Microbiol.** 33:85
- PYNENBORG, J.; VALENZUELA, R.; AGUIRRE, E.; PRADO, D.; OLLER, VERONICA & BARBA, ROXANA. 1994. La producción de inoculantes por el Proyecto de Rizobiología CIAT, Bolivia - Wageningen Agricultural University (WAU), Holanda. Informe Técnico No. 14, 29 p.
- ROUGHLEY, R.J. 1988. Legume inoculants; their technology and application. In: Nitrogen fixation by legumes in mediterranean agriculture. (Eds. D.P. Beck & L.A. Materson). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Holanda
- VINCENT, J.M. 1970. Manual práctico de rizobiología. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires. p. 73

Recibido el 20 de octubre de 1996