

EFFECTO DE LA INOCULACION CON *AZOTOBACTER CHROOCOCCUM* EN LA GERMINACIÓN Y ALTURA DE LAS PLÁNTULAS EN DOS LEGUMINOSAS Y DOS GRAMINEAS

M. Tang

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

Se estudió el efecto de la inoculación con *Azotobacter chroococcum* en la germinación y la altura de las plántulas en dos leguminosas: *Centrosema pubescens* cv. CIAT-423 y *Leucaena leucocephala* cv. CNIA-250 y en dos gramíneas: *Cenchrus ciliaris* cv. Biloela y *Panicum maximum* cv. Likoni. Se emplearon bandejas que contenían 100 semillas de cada planta, con dos tratamientos: inoculado y no inoculado, en un suelo Ferralítico Rojo. El inóculo de azotobacter fue añadido diluyendo 1:40 (v/v) el caldo de cultivo con concentración superior a 10^{10} UFC/ml en agua. *C. pubescens* y *L. leucocephala* no mostraron marcados efectos en el incremento de la germinación al ser inoculados, aunque existió cierta tendencia a aumentar con respecto al tratamiento no inoculado; se produjeron incrementos de 3,7 y 2,2% respectivamente a los 28 días después de la siembra y un ligero aumento en la altura de las plántulas. En *C. ciliaris* y *P. maximum* se observó una disminución de la germinación de las semillas cuando se inoculó con azotobacter y no existió diferencia marcada en la altura, lo que muestra un posible efecto negativo que pudiera estar relacionado con la dosis empleada o la interacción con la cepa. Se recomienda profundizar en estos estudios.

Palabras claves: *Azotobacter chroococcum*, *C. pubescens*, *L. leucocephala*, *C. ciliaris*, *P. maximum*

Effect of inoculation with *Azotobacter chroococcum* on the germination and seedling height in two legumes (*Centrosema pubescens* cv. CIAT-423 and *Leucaena leucocephala* cv. CNIA-250) and two grasses (*Cenchrus ciliaris* cv. Biloela and *Panicum maximum* cv. Likoni) was studied. Trays that contained 100 seeds of each plant were used with two treatments: inoculated and non-inoculated in a Red Ferralitic soil. The inoculum of azotobacter was added diluting the culture broth at 1:40 (v/v) with concentration higher than 10^{10} cell/ml in water. *C. pubescens* and *L. leucocephala* did not show pronounced effects in the increase of the germination being inoculated although, there was certain tendency to increase it in relation to the non inoculated treatment: increments of 3,7 and 2,2% respectively were produced at 28 days after seeding and a slight increase in the seedling heights was observed. A decrease of seeds germination was observed in *C. ciliaris* and *P. maximum* when were inoculated with azotobacter and there was not pronounced difference in the height that show a possible negative effect that would be related with the dosis used or the interaction with strain. It is recommended a further profound study.

Additional index words: *Azotobacter chroococcum*, *C. pubescens*, *L. leucocephala*, *C. ciliaris*, *P. maximum*

Las bacterias del género *Azotobacter* muestran la doble función de fijar el nitrógeno atmosférico y producir sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal. Se calcula que

estas bacterias pueden fijar 40 kg de N/ha, lo que equivale a 200 kg de sulfato de amonio, aunque parte de este es lixiviado por el agua de lluvia y pasa al subsuelo (Primavesi, 198?).

En la antigua URSS se obtuvieron buenos resultados, con incrementos de los rendimientos en hortalizas y en la India en trigo, arroz, cebolla, tomate y col al emplear dichas bacterias (Martínez, Dibut, González, Martín, Hernández, Acosta, Casanova y Pérez, 1989). El efecto estimulador de estos microorganismos se ha estudiado en Cuba, en el Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT), donde se han alcanzado resultados satisfactorios en tomate, cebolla y ajo, con incrementos en la germinación, el rendimiento y el desarrollo de los frutos.

En las plantas empleadas como pastos son bastante escasos los estudios de la acción del azotobacter, por lo que este trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de la inoculación sobre la germinación y la altura de las plántulas de dos leguminosas y dos gramíneas pratenses.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudió el efecto de la inoculación de *Azotobacter chroococcum* sobre dos leguminosas: *Leucaena leucocephala* cv. CNIA-250 y *Centrosema pubescens* cv. CIAT-423, y dos gramíneas: *Panicum maximum* cv. Likoni y *Cenchrus ciliaris* cv. Biloela.

Las cepas de azotobacter empleadas fueron la MB-9 para las gramíneas y la MB-23 para las leguminosas. Estas cepas fueron suministradas por el INIFAT, de Santiago de las Vegas.

Los inoculantes fueron preparados en medio DIMARGON líquido, en erlenmeyer de 300 ml y agitados en zaranda. En el momento de la inoculación se determinó el número de microorganismos viables, mediante el conteo en placas empleando diluciones. La cepa MB-9

mostró una concentración de $3,2 \times 10^{10}$ UFC; mientras que la MB-23 tuvo $1,3 \times 10^{10}$ UFC.

Las semillas fueron sembradas en bandejas de 30 x 40 x 5 cm con 4 kg de suelo Ferralítico Rojo (Anon, 1980) tamizado y esterilizado en autoclave a 121°C por 1 hora. El inoculo fue aplicado en el momento de la siembra en dosis de 50 ml por cada bandeja. El inoculante fue diluido con agua común a razón de 1 ml de caldo de cultivo y 39 ml de agua. Las semillas no recibieron ningún tipo de tratamiento.

Se sembraron 100 semillas por bandeja con dos tratamientos: inoculado y no inoculado. El diseño empleado fue un bloque al azar con cuatro réplicas y se determinó el por ciento de germinación semanalmente hasta los 28 días y la altura de las plántulas, tomando la media de 10 mediciones con un análisis simple de varianza y empleando la dócima de Duncan (1955)

RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla 1 se pueden observar los resultados obtenidos en la germinación de *C. pubescens* y *L. leucocephala* desde los 7 hasta los 28 días después de la siembra en los tratamientos inoculados con azotobacter y sin inocular.

C. pubescens no mostró diferencia significativa en la germinación de las semillas en ninguna de las mediciones realizadas en los 28 días, presentando un ligero incremento de un 1,0; 2,5; 0,4 y 3,7% para 7, 14, 21 y 28 días respectivamente con relación al tratamiento no inoculado; mientras que en *L. leucocephala* tampoco se observó diferencia significativa, aunque sí existió una ligera tendencia a ser mayor en el tratamiento inoculado, con incrementos de 1,5; 3,3; 2,4 y 2,2% en los diferentes días antes mencionados.

Tabla 1. Por ciento de germinación de dos leguminosas inoculadas con *Azotobacter*.

Leguminosa	Tratamiento	% de germinación*			
		7 días	14 días	21 días	28 días
<i>C. pubescens</i> cv. CIAT-423	Inoculado	4,05 (16,4)	4,49 (20,2)	5,63 (31,7)	6,47 (41,9)
	No inoculado	3,93 (15,4)	4,21 (17,7)	5,60 (31,3)	6,18 (38,2)
	ES \pm	0,091	0,122	0,055	0,084
<i>L. leucocephala</i> cv. CNIA-250	Inoculado	3,31 (10,9)	3,83 (14,6)	5,21 (27,1)	5,24 (27,4)
	No inoculado	3,06 (9,4)	3,36 (11,3)	4,97 (24,7)	5,02 (25,2)
	ES \pm	0,203	0,167	0,080	0,089

* Datos transformados según \sqrt{x}

() % de germinación (datos retransformados)

En la tabla 2 se muestran los resultados de la germinación de *P. maximum* cv. Likoni y *C. ciliaris* cv. Biloela. En el primer caso el por ciento de germinación disminuyó en 6,2 cuando se inoculó con *azotobacter*; mientras que en *C. ciliaris* la diferencia fue similar (6,2%). ambos con diferencias significativas entre los tratamientos, lo que denotó un efecto negativo de la inoculación.

En la altura de las plántulas (figs. 1 y 2) se observó una ligera tendencia a ser mayor en ambas leguminosas cuando fueron inoculadas; mientras que en las gramíneas la diferencia entre el tratamiento inoculado y el no inoculado fue menor.

En general, el estudio de la acción de este

microorganismo sobre los pastos es bastante escaso. En este sentido Hurtado, Serrano, Hernández y Martínez (1994) señalaron que la inoculación con *azotobacter* en *Panicum maximum* cv. SIH-190 no produjo efectos positivos en la producción de masa verde, el porcentaje de materia seca y la altura vegetativa de la planta, aunque de otros cultivos como el arroz se logró el empleo del *Azotobacter chroococcum* como parte de la fertilización nitrogenada, de forma que permitió sustituir entre el 10 y 15% de la cantidad total de nitrógeno que se aplica normalmente con la utilización de dosis de 20-30 litros de inoculante/ha (Socorro, Bouza, Morales, Meneses, Cabello y Dibut, 1994).

Tabla 2. Por ciento de germinación de dos gramíneas inoculadas con *azotobacter*.

Gramínea	Tratamiento	% de germinación*			
		7 días	14 días	21 días	28 días
<i>P. maximum</i> cv. Likoni	Inoculado	1,65 ^b (2,7)	2,04 (4,2)	2,10 ^b (4,4)	2,10 ^b (4,4)
	No inoculado	2,23 ^a (5,0)	2,95 (8,7)	3,08 ^a (9,5)	3,25 ^a (10,6)
	ES \pm	0,086*	0,182	0,139*	0,121*
<i>C. ciliaris</i> cv. Biloela	Inoculado	1,60 (2,6)	1,93 ^b (3,7)	2,24 ^b (5,0)	2,24 ^b (5,0)
	No inoculado	2,16 (4,7)	2,99 ^a (8,9)	3,30 ^a (10,9)	3,34 ^a (11,2)
	ES \pm	0,225	0,115*	0,170*	0,181*

a,b Superíndices no comunes difieren para $P < 0,05$ (Duncan, 1955)

* Datos transformados según \sqrt{x}

() % de germinación (datos retransformados)

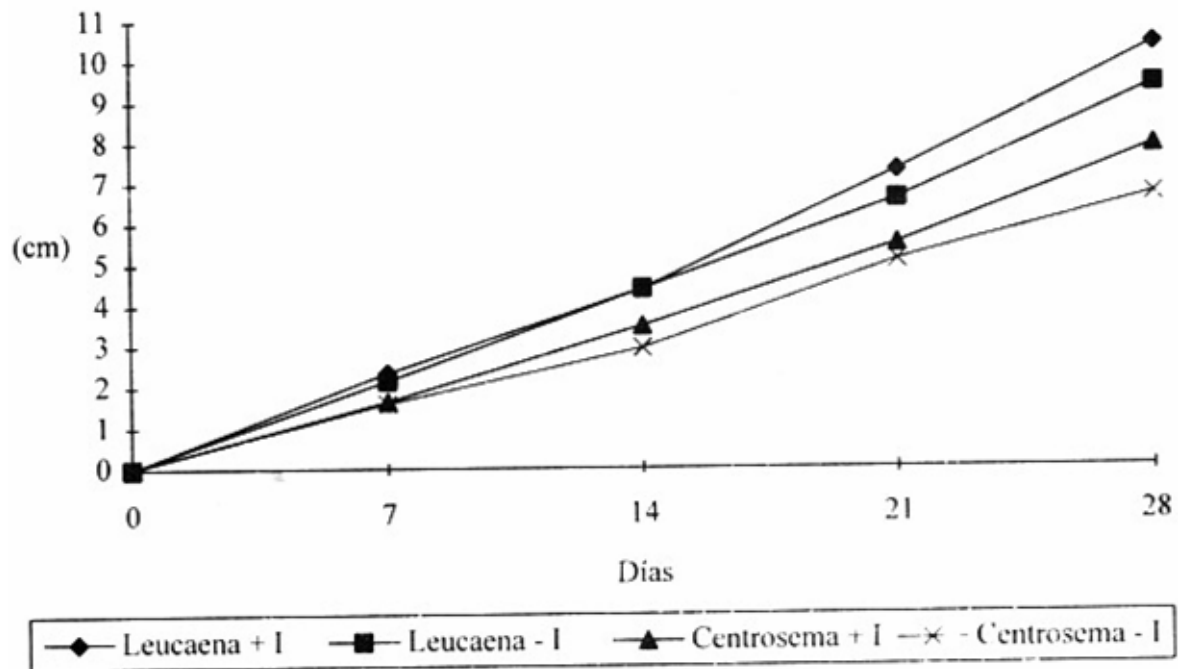


Fig. 1. Altura (cm) de *Leucaena* y *Centrosema* inoculados con azotobacter.

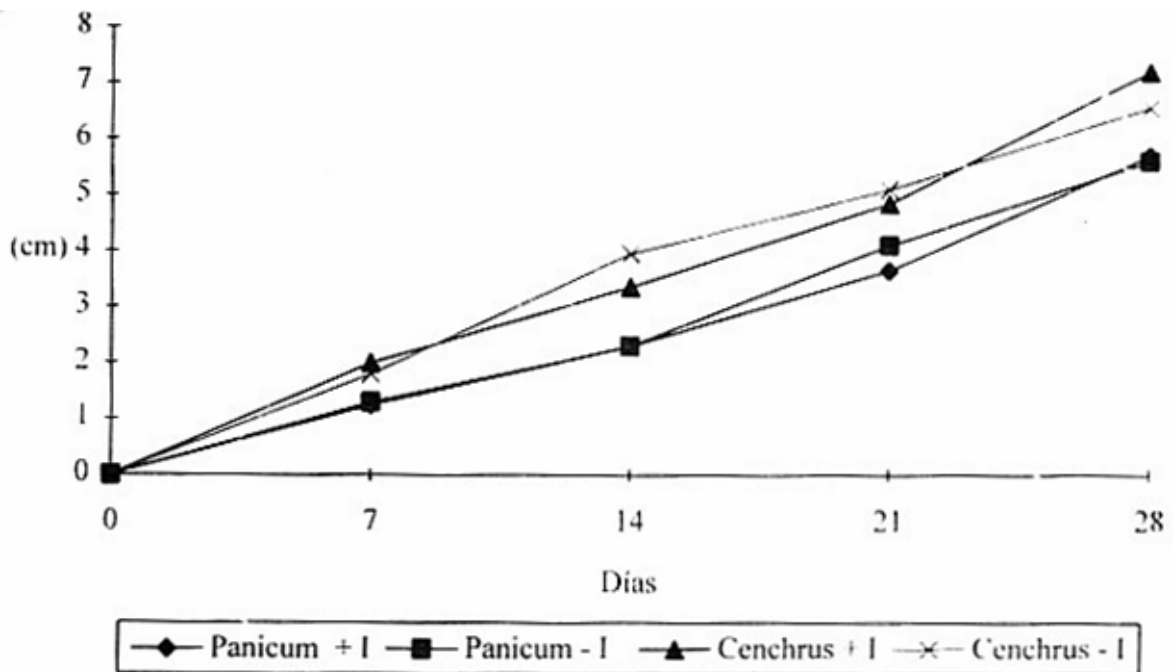


Fig. 2. Altura (cm) de *Panicum* y *Cenchrus* inoculados con azotobacter.

También Tang, M. (inédito) ha obtenido incrementos en el rendimiento de MS de *P. maximum* de un 11,8%, utilizando dosis de 30 litros de inoculante/ha, por lo que posiblemente sea necesario el estudio de distintas dosis de

inoculación, ya que la presencia de diferentes sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal puede influir sobre el desarrollo de las plántulas tanto de forma positiva como negativa. Se ha determinado por Acosta, Dibut,

Martínez, Pérez, Ljunggren, Granhall, Pérez, Antuñez y Rodríguez (1994) en biopreparados de este tipo, la presencia de sustancias como: tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido fólico, proteínas, giberelinas y citoquininas que pueden producir diferentes modificaciones fisiológicas en las plantas, al intervenir en los procesos de fotosíntesis y respiración. Otro aspecto que puede ejercer influencia es la interacción que se establece entre las plantas y las cepas inoculadas.

En las leguminosas tampoco se observó un efecto marcado de la inoculación con *azotobacter* en los parámetros estudiados, aunque existió cierta tendencia a que mejoraran cuando se inoculó. El proceso de inoculación en estas plantas quizás sea más útil para lograr establecer una mejoría en la fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico, ya que se ha detectado que los exudados al 1% de cultivos de *A. chroococcum* permitieron incrementar hasta un 40% la biomasa de *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii en fermentaciones a las 72 horas y se detectó un aumento en el crecimiento radical inicial, el número de nódulos y las plantas noduladas en *Trifolium pratense* al emplear concentraciones de 0,01% (V/V) de exudados (Dibut, Ljunggren, Acosta y Martínez, 1994).

El efecto positivo en las leguminosas en la fijación simbiótica del nitrógeno también ha sido encontrado al emplear otros microorganismos como las micorrizas vesículo-arbusculares (MVA), con incremento en el rendimiento de MS, la nodulación y la actividad nitrogenasa (Delorenzini, 1982; Porcino, Lurlarp y Lynd, 1986; Paulino y Azcon, 1987; Paulino, 1989; Ingham y Molina, 1991), por lo cual resulta muy beneficioso e interesante el estudio de las inoculaciones conjuntas con diferentes microorganismos, donde se establecen procesos que pueden producir una mayor optimización en la fijación del N y la absorción de los diferentes nutrientes.

Estos resultados indican la poca acción de

la cepa MB-23 en *C. pubescens* y *L. leucocephala* en la germinación y la altura de las plantas; mientras que en *P. maximum* y *C. ciliaris*, la cepa MB-9 parece influir de forma negativa, por lo cual estos aspectos se deben continuar estudiando.

REFERENCIAS

- ACOSTA, MARIA DEL C.; DIBUT, B.; MARTINEZ, R.; PEREZ, A.; LJUNGGREN, H.; GRANHALL, U.; PEREZ, D.; ANTUÑEZ, N. & RODRIGUEZ, J. 1994. Cambios fisiológicos en las plantas inducidos por la bioactividad del biofertilizante Biostin. En: Resúmenes XVII Reunión Latinoamericana de Rhizobiología. La Habana. Cuba. p. 108
- ANON. 1980. Antología de suelos. Academia de Ciencias de Cuba. Instituto de Suelos. La Habana, Cuba
- DELORENZINI, C. 1982. Efecto de la incubación con micorrizas vesículo-arbusculares en suelos con diferente contenido de fósforo. **Revista Latinoamericana de Microbiología**. 24:89
- DIBUT, B.; LJUNGGREN, H.; ACOSTA, M. del C. & MARTINEZ, R. 1994. Efecto de la aplicación de exudados de *Azotobacter chroococcum* sobre el crecimiento de *Rhizobium leguminosarum* cv. trifolii y la asociación *R. leguminosarum* bv. trifolii-*Trifolium pratense*. En: Resúmenes XVII Reunión Latinoamericana de Rhizobiología. La Habana. Cuba. p. 54
- HURTADO, L.; SERRANO, R.; HERNANDEZ, M. E. & MARTINEZ, H. L. 1994. Efecto combinado de *Azotobacter* y fertilizante nitrogenado en guinea común cv. SIH-190 (*Panicum maximum* Jacq.). En: Resúmenes XVII Reunión Latinoamericana de Rhizobiología. La Habana, Cuba. p. 108
- INGHAM, E.R. & MOLINA, R. 1991. Interactions among mycorrhizal fungi, rhizosphere organisms and plants. In: Microbiol Mediation of Plant-Herbivore Interactions. (Eds. P.

- Barbosa, Vera A. Krischik and C.G. Jones). John Wiley & Sons. Inc. p. 169
- MARTINEZ, R.; DIBUT, B.; GONZALEZ, R.; MARTIN, B.; HERNANDEZ, M.; ACOSTA, M. del C.; CASANOVA, I. & PEREZ, M. 1989. Resultados obtenidos en condiciones de producción mediante la aplicación de un método biotecnológico que permite incrementar los rendimientos de tomate sobre suelo Ferralítico Rojo. Informe final. INIFAT-MINAG, La Habana. (Mimeo)
- PAULINO, V.T. 1989. Papel de micorriza arbúsculo-vesicular na transferencia de nutrientes em plantas forrageiras. **Rev. de Agricultura**. Piracicaba. 64:195
- PAULINO, V.T. & AZCON, R. 1987. Respostas de *Centrosema pubescens* Benth. a inoculacao de micorriza vesiculo-arbuscular e micro-organismos solubilizadores de fosfato en meio con fosfatos de Rocha. **R. bras. Ci. Solo**. 11:263
- PRIMAVESI, ANA. 198?. Manejo ecológico del suelo. La agricultura en regiones tropicales. Quinta Edición. Editorial El Ateneo, Buenos Aires. 499 p.
- PURCINO, A.A.C.; LURLARP, C. & LYND, J Q. 1986. Mycorrhiza and soil fertility effects with growth, nodulation and nitrogen fixation of *Leucaena* grown on typic entrustox. **Commun. in Soil Sci Plant Anal**. 17:473
- SOCORRO, M.; BOUZA, N.; MORALES, O.; MENESES, P.; CABELLO, R. & DIBUT, B. 1994. Empleo del *Azotobacter chroococcum* en la fertilización nitrogenada del arroz. En: Resúmenes XVII Reunión Latinoamericana de Rhizobiología. La Habana. Cuba. p. 113

Recibido el 15 de diciembre de 1994