

SELECCION DE CEPAS EFECTIVAS DE RIZOBIOS EN CILINDROS CON SUELO NO DISTURBADO EN LEGUMINOSAS TROPICALES. I. SUELO PARDO GRISACEO

M. Tang, J. Menéndez, M. Gazó, A. Castañeda¹ y E.F. Pérez-Hernández²

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

¹ IPA "Angel Montejó". Sancti Spiritus

² Filial Universitaria "José Martí". Sancti Spiritus

Se realizó un estudio para seleccionar cepas de rizobios efectivas en tres leguminosas: *Centrosema pubescens* CIAT-438, *Pueraria phaseoloides* CIAT-9900 y *Stylosanthes guianensis* CIAT-184 en un suelo Pardo Grisáceo de Sancti Spiritus. Se empleó la técnica de cilindros de PVC con suelo no disturbado comparados con dos controles: uno con 150 kg de N/ha y otro sin N, ambos sin inocular. Las tres leguminosas mostraron respuesta efectiva con varias de las cepas probadas. *C. pubescens* incrementó su rendimiento de MS, contenido total de N y número y peso seco de los nódulos al ser inoculado con las cepas IH-1019 (CIAT-1780); IH-1010 (CIAT-392), IH-1012 (CIAT-590) e IH-1018 (CIAT-1670) en ese orden, al igual que *P. phaseoloides* con las cepas IH-1014 (CIAT-643), IH-1040 (CIAT-3648), IH-1018 (CIAT-1670) e IH-1043 (CIAT-3796) y *S. guianensis* con la IH-1015 (CIAT-860), IH-101 e IH-1021 (CIAT-2138). El número y peso seco de los nódulos disminuyó con la aplicación de 150 kg de N/ha en *Pueraria* y *Stylosanthes*, mientras que en *Centrosema* el número de nódulos fue igual que en el tratamiento sin inocular y sin N y el peso seco fue mayor aunque sin diferencia significativa.

Palabras claves: *Centrosema pubescens*, *Pueraria phaseoloides*, *Stylosanthes guianensis*, rizobio, fijación de N

An experiment was conducted in order to select effective rhizobium strains. Three legumes (*Centrosema pubescens* CIAT-438, *Pueraria phaseoloides* CIAT-9900 and *Stylosanthes guianensis* CIAT-184) were used in a brown/gray soil at Sancti Spiritus. The technique of undisturbed soil cores of PVC was used compared with two controls: one of them with 150 kg of N/ha and the other without N; both controls were not inoculated. Effective response was found in the three legumes with several tested strains. When *C. pubescens* was inoculated with the strains IH-1019 (CIAT-1780), IH-1010 (CIAT-392), IH-1012 (CIAT-590) and IH-1018 (CIAT-1670), as well as *P. phaseoloides* with the strains IH-1014 (CIAT-643), IH-1040 (CIAT-3648), IH-1018 (CIAT-1670) and IH-1043 (CIAT-3796) and *S. guianensis* with the strains IH-1015 (CIAT-860), IH-1011 and IH-1021 (CIAT-2138) their DM yield, total N content, and number and dry weight of nodules increased. The application of 150 kg of N/ha in *Pueraria* and *Stylosanthes* decreased the number and dry weight of nodules. Nodule number in *Centrosema* was similar to the treatment without N and inoculation; dry weight was higher but without significative differences.

Additional index words: *Centrosema pubescens*, *Pueraria phaseoloides*, *Stylosanthes guianensis*, Rhizobium, N fixation

Es mundialmente conocida la importancia de la fijación biológica del nitrógeno, con lo cual se aporta una gran cantidad de este elemento al desarrollo de las plantas. En 1975 se calculaba en 175 millones de toneladas el total de N fijado por medios naturales, de los cuales 35 millones correspondían a las plantas leguminosas (Da Silva, Freire, Hillali y Keya, 1987). Esto puede satisfacer en parte la necesidad existente, que para el año 2000 se espera sea de alrededor de 160 millones de toneladas.

Ahora bien, las leguminosas necesitan el establecimiento de un proceso eficiente con el rizobio para fijar el N; necesario, ya que no todas las bacterias de ese género son capaces de establecer una efectiva fijación con todas las especies de dichas plantas, pues existe especificidad en sus requerimien-

tos de rizobios (Date, 1977; Halliday, 1979; Tang, 1988). De ahí la necesidad de seleccionar las cepas de rizobios más fijadoras para las distintas leguminosas en las diferentes condiciones existentes, cuestiones que han sido el objetivo de este trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en invernadero, inoculando diferentes cepas de rizobios en tres leguminosas: *Centrosema pubescens* CIAT-438, *Pueraria phaseoloides* CIAT 9900 y *Stylosanthes guianensis* CIAT-184. Algunas características de las cepas probadas y su inoculación sobre las distintas leguminosas se observan en la tabla 1.

Tabla 1. Cepas de rizobios inoculados en las distintas leguminosas.

	Inoculado en:			Sinónimo	Origen
	Centrosema	Pueraria	Stylosanthes		
IH-002		x		-	Cuba
IH-101			x	-	Cuba
IH-1002		x	x	CIAT-46, SV 462	Australia
IH-1010	x			CIAT-392	Colombia
IH-1012	x			CIAT-590	México
IH-1014		x	x	CIAT-643	Colombia
IH-1015			x	CIAT-860, CB 1650	Brasil
IH-1018	x	x	x	CIAT-1670	México
IH-1019	x			CIAT-1780	Perú
IH-1021			x	CIAT-2138	Brasil
IH-1035	x			CIAT-3196	Brasil
IH-1037	x			CIAT-3334	Colombia
IH-1040		x		CIAT-3648	Colombia
IH-1043		x		CIAT-3796	Brasil
IH-1049	x			CIAT-3894, TAL 651	Malasia

La técnica empleada para determinar la efectividad de las cepas de rizobios fue la inoculación en cilindros de PVC (Polivinil cloruro) con suelo no disturbado y los resultados se compararon con dos controles: uno al cual se le aplicó 150 kg de N/ha y otro sin N, ambos sin inocular, en un diseño de bloques al azar con cinco réplicas y procediendo de la forma

descrita por Sylvester Bradley, Ayarza, Méndez y Moriones (1988) y Tang y Sylvester Bradley (1986).

El suelo empleado fue Pardo Grisáceo (Anon, 1980), localizado en el Instituto Politécnico de Agronomía "Angel Montejo" de Sancti Spiritus, cuyas características se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Características del suelo Pardo Grisáceo.

Indicador	Valor	Método
pH	6,70	Potenciometría (H ₂ O)
P ₂ O ₅	2,60 mg/100 g	Machiguin
K ₂ O	22,28 mg/100 g	Machiguin
Ca ⁺⁺	51,40 me/100 g	Maslova
Mg ⁺⁺	6,20 me/100 g	Maslova
K ⁺	0,46 me/100 g	Maslova

RESULTADOS

La tabla 3 muestra los resultados obtenidos en *C. pubescens* al ser inoculado con siete cepas de rizobios.

La cepa más destacada en el rendimiento y contenido total de nitrógeno fue la IH-1019. También la IH-1010 tuvo un comportamiento destacado en estos dos parámetros, así como las cepas IH-1012 e IH-1018. Estas cuatro bacterias presentaron diferencias significativas ($P < 0,001$) con respecto al tratamiento al cual no se le aplicó N, con valores similares al tratamiento con 150 kg de N/ha (tabla 3).

La cepa que presentó mayor nodulación fue la IH-1012 con 51,5 nódulos/planta y 144,9 mg en el peso seco (PS) de los nódulos, seguida por la IH-1049 que produjo 50 nódulos/planta y

130,2 mg de PS de los nódulos. Esta última, a pesar de mostrar una buena nodulación, no fue efectiva, ya que sus resultados en el rendimiento de MS y contenido total de N fueron similares a los del tratamiento al cual no se le aplicó N y significativamente menores que los del que le fue aplicado 150 kg de N/ha, lo que muestra la poca efectividad de esta cepa en la fijación del dinitrógeno atmosférico.

En *P. phaseoloides* fueron probadas seis cepas de rizobios de las cuales la IH-1014 resultó la más destacada en el rendimiento de MS y contenido total de N, seguida por la IH-1040, IH-1018 e IH-1043, las cuales también presentaron diferencias significativas ($P < 0,001$) con el tratamiento sin N y sin inocular y valores similares al control con 150 kg de N/ha (tabla 4).

Tabla 3. Resultados obtenidos en *Centrosema pubescens* CIAT-438 en un suelo Pardo Grisáceo de Sancti Spiritus.

Cepa	Rendimiento de MS (g/cilindro)	Contenido total		Número de nódulos ¹
		de N (mg/cilindro)	Peso seco nódulos (mg)	
IH-1010	5,82 ^{ab}	18,2 ^a	77,8	5,5 ^{ab} (29,9)
IH-1012	5,70 ^{abc}	17,8 ^a	144,9	7,2 ^a (51,5)
IH-1018	5,54 ^{abc}	15,4 ^{ab}	93,4	5,3 ^{ab} (27,7)
IH-1019	6,18 ^a	18,0 ^a	130,6	6,2 ^{ab} (38,1)
IH-1035	4,54 ^{cd}	12,9 ^{bc}	64,2	4,6 ^b (20,8)
IH-1037	3,94 ^d	12,5 ^{bc}	108,5	5,8 ^{ab} (33,3)
IH-1049	4,64 ^{bcd}	13,6 ^{bc}	130,2	7,1 ^a (50,0)
Con N	5,54 ^{abc}	16,3 ^{ab}	74,3	4,5 ^b (19,9)
Sin N	3,78 ^d	11,3 ^c	39,2	4,5 ^b (19,9)
ES ±	0,38***	1,27**	24,07	0,62*

a,b,c,d Superíndices no comunes en columna difieren para P<0,05 (Duncan, 1955)

¹ Datos transformados según $\sqrt{x + 0,375}$ () Datos retransformados

** P<0,01

*** P<0,001

Tabla 4. Resultados obtenidos en *Pueraria phaseoloides* CIAT-9900 en un suelo Pardo Grisáceo de Sancti Spiritus.

Cepa	Rendimiento de MS (g/cilindro)	Contenido total		Número de nódulos ¹
		de N (mg/cilindro)	Peso seco nódulos (mg)	
IH-002	3,42 ^c	8,2 ^c	13,9 ^c	3,2 ^c (9,9)
IH-1002	4,06 ^{bc}	9,6 ^{bc}	167,8 ^b	5,8 ^{ab} (33,9)
IH-1014	6,00 ^a	14,1 ^a	130,7 ^b	5,4 ^{ab} (28,8)
IH-1018	5,70 ^{ab}	12,6 ^{ab}	265,5 ^a	6,6 ^a (43,2)
IH-1040	6,08 ^a	12,8 ^{ab}	117,2 ^b	5,0 ^b (24,6)
IH-1043	5,14 ^{ab}	12,2 ^{ab}	177,5 ^b	5,7 ^{ab} (32,1)
Con N	6,10 ^a	14,0 ^a	2,7 ^c	0,9 ^d (0,4)
Sin N	3,54 ^c	7,2 ^c	21,0 ^c	2,4 ^c (5,4)
ES ±	0,38***	1,02***	25,62***	0,41***

a,b,c,d Superíndices no comunes en columna difieren para P<0,05 (Duncan, 1955)

¹ Datos transformados según $\sqrt{x + 0,375}$ () Datos retransformados

*** P<0,001

De las cepas probadas, la IH-002 fue la de menor efectividad, pues presentó los menores valores en todos los parámetros analizados, seguida por la IH-1002, la cual, a pesar de presentar buena nodulación, no resultó afectiva, ya que no existieron incrementos en el rendimiento y contenido total de N.

En pueraria la nodulación fue mayor cuando se inoculó con la cepa IH-1018, sin diferencias significativas con la IH-1014 y la IH-1043, aunque sí las superó en el peso seco de los nódulos. La cepa IH-1040 mostró una buena efectividad, aunque no presentó los mejores valores

en el peso y número de los nódulos (tabla 4).

Los resultados obtenidos en *S. guianensis* se pueden apreciar en la tabla 5. Esta leguminosa fue inoculada con seis cepas de rizobios, dentro de las que sobresalió la IH-1015 con rendimiento de MS y contenido total de N que casi duplicaron los valores obtenidos en el tratamiento al cual no se le aplicó nitrógeno, y superaron incluso al control con 150 kg de N/ha en la segunda medición. También se destacaron en estos dos parámetros la cepa IH-101 y la IH-1021, con valores similares al tratamiento con N.

Tabla 5. Resultados obtenidos en *Stylosanthes guianensis* CIAT-184 en un suelo Pardo Grisáceo de Sancti Spiritus.

Cepa	Contenido total			
	Rendimiento de MS (g/cilindro)	de N (mg/cilindro)	Peso seco nódulos (mg)	Número de nódulos ¹
IH-101	14,10 ^{ab}	13,3 ^b	12,2 ^a	5,9 ^b (34,4)
IH-1002	10,68 ^{bc}	11,5 ^b	8,7 ^{ab}	6,7 ^{ab} (44,5)
IH-1014	9,16 ^c	8,7 ^c	10,9 ^{ab}	6,5 ^{ab} (41,9)
IH-1015	16,46 ^a	16,0 ^a	13,6 ^a	7,5 ^a (55,9)
IH-1018	10,86 ^{bc}	11,8 ^b	13,2 ^a	7,8 ^a (60,5)
IH-1021	12,00 ^b	12,3 ^b	12,2 ^a	6,6 ^{ab} (43,2)
Con N	13,82 ^{ab}	12,8 ^b	1,6 ^c	1,9 ^d (3,2)
Sin N	9,38 ^c	8,3 ^c	5,2 ^{bc}	3,9 ^c (14,8)
ES ±	1,07***	0,90***	2,20**	0,46***

a,b,c,d Superíndices no comunes en columna difieren para P<0,05 (Duncan, 1955)

¹ Datos transformados según $\sqrt{x + 0,375}$

() Datos retransformados

** P<0,01

*** P<0,001

La nodulación en dicha especie fue superior cuando se inoculó con la cepa IH-1018, aunque esta no fue la más efectiva, seguida por la IH-1015 que sí resultó ser la de mayor efectividad en la fijación de N₂. De estas seis cepas inoculadas la que mostró la menor

cantidad de nódulos fue la IH-101 (34,4 nódulos/planta), pero con mayor peso seco y mejor efectividad sobre la planta.

En *P. phaseoloides* y *S. guianensis* se observó que la aplicación de 150 kg de N/ha produjo una disminución en la nodulación por la acción negativa de este

elemento, lo que no ocurrió en *C. pubescens* que presentó una nodulación similar al aplicar o no el nitrógeno, e incluso mostró mayor PS de los nódulos (tabla 5).

DISCUSION

C. pubescens CIAT-438 mostró una buena respuesta con cuatro de las siete cepas probadas, con las cuales se incrementaron los rendimientos de MS y contenidos totales de nitrógeno en estas plantas, lo que significó que el 57% de ellas fueron efectivas. El Centrosema ha sido presentado por Date (1977) como un género de plantas que nodulan bien con un amplio rango de cepas de rizobios, pero su nodulación a menudo es no efectiva, lo que se corrobora con estos resultados.

Esta especie ha mostrado diferente comportamiento al ser inoculada con varias cepas de rizobios en distintas condiciones. En un experimento realizado con cilindros con suelo no disturbado de Quilichao y Carimagua, Colombia, en el primer suelo se destacaron cuatro cepas (CIAT-392, CIAT-1670, CIAT-1780 y CIAT-1788) de 18 que fueron probadas, mientras que en el segundo solamente dos de ellas (CIAT-1670 y CIAT-1780) resultaron de buena efectividad (Tang y Sylvester Bradley, 1986).

Otros ensayos de invernadero confirman la existencia de cierta especificidad en la fijación efectiva del N₂ atmosférico de *C. pubescens*, como los realizados por Miranda, Seiffert y Souto (1985) y Tang (1988).

Al conjugar los diferentes ensayos efectuados en las distintas condiciones estudiadas, se observó que las cepas que presentaron mayor estabilidad en su efectividad para esta leguminosa fueron la IH-1018 (CIAT-1670) y la IH-1019 (CIAT-1780) (Tang *et al.*, 1986; Tang, 1988), aunque también mostró buen

comportamiento la IH-1010 (CIAT-392). Estas cepas, al parecer, resultan buenas para la preparación de inoculantes para diferentes condiciones en que no se hayan realizado estudios previos de nodulación y fijación del N₂, ya que muestran un buen desempeño en un rango variado de suelos.

También se ha observado que en *C. pubescens* puede existir una respuesta efectiva con las cepas existentes de forma natural en el suelo, como es el caso encontrado en un suelo Pardo sin Carbonatos de Camagüey, donde se detectó que esta planta produjo altos rendimientos y contenidos totales de N, similares a los resultados obtenidos con la aplicación de N y sin aplicación de inoculantes (Tang, Menéndez, Ramírez y Guevara, 1990), mientras que en otros tres suelos (Ferralítico Rojo de Matanzas y Aluvial y Pardo Grisáceo de Sancti Spiritus) no se encontraba respuesta con las cepas salvajes del suelo (Tang, Menéndez, Castañeda y Tellez, 1990).

P. phaseoloides CIAT-9900 presentó una mayor cantidad de cepas efectivas, ya que de las seis probadas, cuatro presentaron mayores rendimientos de MS, contenido total de N y nodulación que los del tratamiento sin inocular y sin N, con diferencia significativa ($P < 0,001$). En otras condiciones esta leguminosa ha mostrado también buena respuesta al ser inoculada con diferentes cepas de rizobios (CIAT, 1987; Aguirre, Valdés y Sylvester Bradley, 1988; Arosemena, Morales y Sylvester Bradley, 1988).

En ensayos realizados anteriormente en este suelo, se determinó que *C. pubescens* y *P. phaseoloides* no presentaron buena respuesta con las cepas salvajes existentes, mientras que en *S. guianensis* se observó una acción semiefectiva por parte de las cepas naturales del suelo (Tang *et al.*, 1990).

Date (1977) plantea que el *stylosanthes* muestra cierta especificidad en sus requerimientos de rizobios, pues

presenta subgrupos de especies que pueden nodular con un amplio rango de cepas, aunque no siempre de forma efectiva, y otras especies que manifiestan alta especificidad.

En trabajos anteriores *S. guianensis* se comportó como una leguminosa específica, pues solamente una cepa de rizobio fue efectiva de doce probadas en cuatro cultivares de esta especie y además no mostró respuesta a la inoculación en un suelo Ferralítico Rojo (Tang, 1986; Tang y Menéndez, 1987); sin embargo, en este ensayo tres de las seis cepas (IH-101, IH-1015 e IH-1021) incrementaron el rendimiento de MS, contenido total de N y la nodulación en comparación con el tratamiento sin inocular y sin N. En este sentido puede afirmarse que la cepa IH-101 ha mostrado buen comportamiento en otros ensayos en esta especie (Tang, 1986; Tang, 1988), al igual que la IH-1015 (CIAT-860, CB-1650) que es recomendada para *S. guianensis* en Australia (Date y Norris, 1974).

En las tres especies estudiadas el número y el peso seco de los nódulos se vieron afectados con la aplicación de 150 kg de N/ha, aunque en *C. pubescens* 438 se observó igual número de nódulos en los tratamientos con N y sin N y mayor peso seco en el primero. Ello corrobora la conocida poca respuesta que ha presentado esta especie a la aplicación de N, reflejada en el índice de Respuesta al Nitrógeno (IRN) (CIAT, 1988), que ha sido pobre en las condiciones de Cuba y que mostró en este suelo un valor de IRN= 19,02, bastante inferior al de *P. phaseoloides* (IRN= 56,20), *S. guianensis* (IRN= 38,96) y *Teramnus labialis* (IRN = 49,36) (Tang *et al.*, 1990).

Las cepas más efectivas para *C. pubescens* 438 fueron la IH-1019 y la IH-1010; para *P. phaseoloides* 9900 la IH-1014 y la IH-1040 y para *S. guianensis* 184 la cepa IH-1015 y la IH-101, con las cuales pueden inocularse estas

leguminosas para incrementar el rendimiento, el contenido de nitrógeno y la nodulación.

REFERENCIAS

- AGUIRRE, M.J.; VALDES, M. & SYLVESTER BRADLEY, R. 1988. *Pasturas tropicales*. 19(3):18
- ANON. 1980. Antología de suelos. Academia de Ciencias de Cuba. Instituto de Suelos. La Habana
- AROSEMENA, E.; MORALES, R. & SYLVESTER BRADLEY, R. 1988. Evaluación del efecto de la inoculación con rizobio y la fertilización con molibdeno en *Pueraria phaseoloides* y *Centrosema macrocarpum*. 1era. Reunión de la Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales CAC, Veracruz, México, (E.A. Pizarro, ed.). p. 469
- CIAT. 1987. *Informe anual. Pastos Tropicales*. Cali, Colombia
- CIAT. 1988. Simbiosis leguminosa-rizobio. Manual de métodos de evaluación, selección y manejo agronómico. Cali, Colombia
- DA SILVA, E.J.; FREIRE, J.; HILLALI, A. & KEYA, S.O. 1987. Nuestros amigos los microbios. El Correo de la UNESCO. Marzo, p. 27
- DATE, R.A. 1977. Inoculation of tropical pasture legumes. In: Workshop on exploiting the legume-Rhizobium symbiosis in tropical agriculture, Hawaii. (Eds. Vincent, J.M.; Whitney, A.S. and Bose, J.) College of Tropical Agriculture. Miscellaneous publication No. 145, p. 293
- DATE, R.A. & NORRIS, D.O. 1984. *Genetic resources communication* No. 6. CSIRO, Australia
- HALLIDAY, J. 1979. Field responses by tropical forage legumes to inoculation

- with Rhizobium. In: Pasture production in acid soils of tropic. (Eds. Sánchez, P.A. and Tergas, L.E.) CIAT, Colombia, p. 123
- MIRANDA, C.H.B.; SEIFFERT, N.F. & SOUTO, S.M. 1985. *Pesq. Agropec. bras.* 20(10):1157
- SYLVESTER BRADLEY, ROSEMARY; AYARZA, M.A.; MENDEZ, J.E. & MORIONES, R. 1983. *Plant Soil.* 74:237
- TANG, M. 1986. *Pastos y Forrajes.* 9:29
- TANG, M. 1988. Study of Rhizobium inoculation in tropical forage legumes in Cuba. Dissertation for Candidate Science Degree. Research Institute for Crop Production. Prague, Czechoslovakia
- TANG, M. & MENENDEZ, J. 1987. *Pastos y Forrajes.* 10:116
- TANG, M.; MENENDEZ, J.; CASTAÑEDA, A. & TELLEZ, D. 1990. *Pastos y Forrajes.* 13:21
- TANG, M.; MENENDEZ, J.; RAMIREZ, F. & GUEVARA, R. 1990. *Pastos y Forrajes.* 13:265
- TANG, M. S, SYLVESTER BRADLEY, ROSEMARY. 1986. *Pastos y Forrajes.* 9:111

Recibido el 4 de diciembre de 1990