

SELECCION DE CEPAS EFICIENTES DE *Rhizobium* EN CUATRO CULTIVARES DE *Stylosanthes guianensis*

M. Tang

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

Se inocularon doce cepas de *Rhizobium* sp. en 4 cvs. de *Stylosanthes guianensis* (Congo, Cook, CIAT-136 y CIAT-184) para seleccionar las más eficientes. Se realizaron dos fases: 1) en tubos de ensayo con cuñas de agar con solución nutritiva de Norris y Date y II) en combinaciones pomos-botellas de Leonard, en un diseño de bloques al azar con cinco réplicas. Se determinó el tiempo de aparición del primer nódulo, el rendimiento de MS, el contenido de N en la parte foliar y el número de nódulos/planta. La aparición del primer nódulo ocurrió, en general, entre los 22 y 23 días. Se destacó la cepa IH-101 en los cvs. Congo, Cook, CIAT-136 y CIAT-184, con rendimientos de 51,45; 55,43; 51,90 y 53,92 mg MS/planta superiores a sus respectivos controles sin inocular y sin aplicar N (26,18; 34,46; 27,47 y 33,28); además con la inoculación de esta cepa se detectó también un mayor contenido de N y una mayor producción de nódulos. La cepa de *Rhizobium* IH-101 mostró, en todos los casos, los mejores resultados y se presenta como una buena opción para la inoculación por su buen rango de efectividad en los distintos cultivares de *Stylosanthes guianensis* aquí estudiados.

Palabras clave: *Rhizobium*, inoculación, selección, *S. guianensis*

Twelve strains of *Rhizobium* sp. were tested to select the most effective in four cvs. of *Stylosanthes guianensis* (Congo, Cook, CIAT-136 and CIAT-184). There were two phases: 1) in wedges of agar with Norris and Date solution and II) inoculation of plants cultured in Leonard jar assemblies. A completed randomized block design with five replications was used. Date to first nodule formation, DM yield, N content in the folial part and number of nodule/plant were determined. First module formation occurred after 22 or 23 days. The best strain in all cultivars was IH-101 which showed yields of 51,45; 55,43; 51,90 and 53,92 mg DM/plant respectively, better than the control without inoculation and without nitrogen (26,18; 34,46; 27,47 and 33,28). Moreover this strain presented higher nitrogen content and a major number of nodules. This *Rhizobium* strain showed the best results in all cases and it may be utilized to inoculate these cultivars of *S. guianensis* in order to obtain a good range of effectiveness.

Key words: *Rhizobium*, inoculation, selection, *S. guianensis*

Las leguminosas desempeñan un importante papel en la alimentación ganadera, por su alto contenido proteico y su aporte de N al sistema suelo-planta. Dentro de ellas, el *Stylosanthes guianensis* ha presentado resultados y características satisfactorias para su explotación (Funes, Yepes y Hernández, 1971; Dudar, Machado y Pedraza, 1975; López, Paretas y Senra, 1975; Machado y Chao, 1980).

En los últimos años en nuestro país se han introducido diferentes cultivares de esta especie, de los cuales han resultado destacados algunos, como el CIAT-136 y CIAT-184, que presentan perspectivas de explotación a gran escala en determinadas zonas de nuestro país (Menéndez, comunicación personal).

Este género presenta cierta especificidad en sus requerimientos de *Rhizobium* para poder establecer una simbiosis efectiva, ya que en él se pueden encontrar desde especies con un amplio rango de nodulación efectiva hasta otras con gran especificidad en dichos requerimientos (Date, 1977).

En Cuba se han realizado pocos estudios acerca de los requerimientos de *Rhizobium* en este género, por lo que en el presente trabajo nos hemos propuesto estudiar la acción de diferentes cepas sobre 4 cvs. de *Stylosanthes guianensis*, analizando su comportamiento, y a la vez seleccionar cepas más efectivas en la fijación de N para dichas plantas.

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 4 cvs. de *Stylosanthes guianensis*: Congo, Cook, CIAT-136 y CIAT-184, los cuales fueron inoculados

con doce cepas de *Rhizobium* sp. De estas, once fueron aisladas en nuestro laboratorio y una, la CIAT-71, fue introducida del CIAT, Cali, Colombia.

Se establecieron dos fases: I. Compatibilidad genética y II. Potencial de fijación, siguiendo el proceso llevado a cabo por Halliday (1979), adaptado a nuestras condiciones (Tang, Tamayo y Márquez, 1982)

RESULTADOS

Fase I. Compatibilidad genética. De las doce cepas inoculadas, sólo cuatro (CIAT-71, IH-100, IH-101 e IH-102) fueron capaces de producir nodulación en los diferentes cvs. de *S. guianensis*. Presentó mayor nodulación el cv. CIAT-184 (2,83 nódulos/planta) a los 25 días (tabla 1).

El de menor nodulación en esta fase fue el cv. Congo con un promedio de 1,25 y 1,63 nódulos/planta a los 25 y 30 días respectivamente, mientras que el cv. Cook y el CIAT-136 presentaron resultados intermedios.

En general, la aparición del primer nódulo ocurrió entre los 22 y 23 días, excepto en las cepas IH-100 e IH-102 en el cv. CIAT-136, las que nodularon a los 28 y 25 días respectivamente. En la generalidad de los casos se observó un incremento de la nodulación al transcurrir el tiempo (tabla 1).

Fase II. Determinación del potencial de fijación. En la tabla 2 se pueden observar los resultados obtenidos en el rendimiento de los 4 cvs. estudiados al ser inoculados con las diferentes cepas

de *Rhizobium*. El cv. Congo presentó un mayor rendimiento cuando se inoculó con la cepa IH-101 (51,45 mg MS/planta), valor similar al hallado en el

control donde se aplicaron 150 kg de N, y muy superior al control sin inocular y sin N del cual difirió significativamente ($P < 0,001$).

Tabla 1. Nodulación¹ y momento de aparición del primer nódulo de 4 cvs. de *S. guianensis*.

Cultivar	Cepa	Nódulos/planta		Aparición primer nódulo (días)
		25 días	30 días	
Congo	CIAT-71	2,0	2,0	22
Congo	IH-100	1,0	2,0	23
Congo	IH-101	1,0	1,0	22
Congo	IH-102	1,0	1,5	23
\bar{x}	-	1,25	1,63	22,50
Cook	CIAT-71	2,0	2,5	23
Cook	IH-100	1,0	1,0	23
Cook	IH-101	2,0	3,0	22
Cook	IH-102	1,0	2,0	22
\bar{x}	-	1,50	2,13	22,50
CIAT-136	CIAT-71	2,0	3,5	23
CIAT-136	IH-100	-	4,0	28
CIAT-136	IH-101	2,0	3,0	22
CIAT-136	IH-102	1,0	1,0	25
\bar{x}	-	1,25	2,88	24,50
CIAT-184	CIAT-71	2,5	3,0	22
CIAT-184	IH-100	3,6	6,3	23
CIAT-184	IH-101	3,3	4,2	22
CIAT-184	IH-102	2,0	2,3	22
\bar{x}	-	2,83	3,95	22,25

¹ Promedio de nódulos de 5 repeticiones

En los cvs. Cook, CIAT-136 y CIAT-184 también se destacó la cepa IH-101, con rendimientos superiores en relación con sus respectivos controles sin N, de los cuales difirió significativamente ($P < 0,01$, $P < 0,01$ y $P < 0,05$ respectivamente), y mostró valores similares al control donde se añadió N (tabla 2).

La cepa IH-101 también produjo los más altos contenidos de N en la parte foliar de la planta, lo cual puede observarse en la tabla 3. Dichos valores fueron similares al control con N y superaron al resto de las cepas probadas. Existió diferencia significativa ($P < 0,05$) en los cvs. Congo y CIAT-184

con respecto al control sin N. En los cvs. Cook y CIAT-136 no se detectaron diferencias significativas, pero la cepa IH-101 también determinó los mejores valores con 1,11 y 0,94 mg de N/planta respectivamente (tabla 3).

En la fase II, después de 12 semanas, el número de nódulos/planta producido por las diferentes cepas fue mayor en la cepa IH-101 en todos los

casos, con diferencias significativas ($P < 0,001$ y $P < 0,05$) respecto al resto de las cepas, en los cvs. Congo y CIAT-136 respectivamente. En el cv. Cook, la cepa IH-101 no tuvo diferencia significativa con las otras cepas, en cuanto al número de nódulos/planta al igual que en el cv. CIAT-184, pero los valores alcanzados por esta cepa fueron los mayores (tabla 4).

Tabla 2. Rendimiento (mg MS/planta) de 4 cvs. de *S. guianensis* inoculados con varias cepas de *Rhizobium*.

Cepa	Congo	Cook	CIAT-136	CIAT-184
CIAT-71	33,53 ^b	42,78 ^b	35,37 ^b	31,20 ^c
IH-100	31,94 ^b	41,89 ^b	37,55 ^b	31,87 ^{bc}
IH-101	51,45 ^a	55,43 ^a	51,90 ^a	53,92 ^a
IH-102	37,54 ^b	35,82 ^b	28,07 ^b	37,25 ^{abc}
Control N	50,40 ^a	60,73 ^a	52,40 ^a	52,90 ^{ab}
Control SN	26,18 ^b	34,46 ^b	27,47 ^b	33,28 ^{bc}
ES $\bar{x} \pm$	3,71 ^{***}	4,25 ^{**}	4,38 ^{**}	6,00 [*]

N - Control con 150 kg de N y sin inocular

SN - Control sin N y sin inocular

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

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$

Tabla 3. Contenido de N en la parte foliar en 4 cvs. de *S. guianensis* inoculados con varias cepas de *Rhizobium* (mg/planta).

Cepa	Congo	Cook	CIAT-136	CIAT-184
CIAT-71	0,63 ^b	0,91	0,70	0,63 ^b
IH-100	0,71 ^b	0,89	0,68	1,02 ^{ab}
IH-101	1,21 ^a	1,11	0,94	1,39 ^a
IH-102	0,81 ^b	0,71	0,72	0,82 ^b
Control N	1,27 ^a	1,27	0,96	0,84 ^b
Control SN	0,62 ^b	0,74	0,54	0,76 ^b
ES $\bar{x} \pm$	0,12 [*]	0,15	0,11	0,12 [*]

N - Control con 150 kg de N y sin inocular

SN - Control sin N y sin inocular

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

* $P < 0,05$

Tabla 4. Número de nódulos/plantas de 4 cvs. de *S. guianensis* inoculados con varias cepas de *Rhizobium*.

Cepa	Congo	Cook	CIAT-136	CIAT-184
CIAT-71	1,92b (3,3)	2,41 (5,4)	1,76 ^b (2,7)	1,69 (2,5)
IH-100	2,00b (3,6)	2,19 (4,4)	1,99 ^b (3,6)	2,19 (4,4)
IH-101	3,60 ^a (12,6)	2,71 (7,0)	2,63 ^a (6,6)	2,65 (6,6)
IH-102	1,58 ^b (2,1)	1,95 (3,4)	1,66 ^b (2,4)	2,36 (5,2)
ES $\bar{x} \pm$	0,27 ^{***}	0,23	0,20 [*]	0,30

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

() Datos retransformados

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

* $P < 0,05$

DISCUSION

Los 4 cvs. de *S. guianensis* (Congo, Cook, CIAT-136 y CIAT-184) no presentaron variación en su nodulación con respecto a las distintas cepas de *Rhizobium* durante la fase 1, pues en todos los casos las mismas cuatro cepas fueron capaces de nodular, lo que representa el 25% del total de las cepas probadas. Ello nos indica que esta especie presenta cierta especificidad en sus requerimientos de *Rhizobium*. Otros autores han obtenido poca respuesta a la inoculación en la misma, como Quintero y Garza (1978) quienes al inocular con nueve cepas, no encontraron nodulación y Bowen (1981) que tampoco obtuvo una respuesta adecuada al inocular *S. guianensis* cv. Oxley con varias cepas.

El tiempo de aparición del primer nódulo en la fase precitada, ocurrió generalmente entre los 22 y 23 días después de la inoculación, lo cual se corresponde *S. guianensis* inoculados con otros resultados obtenidos por Tang *et al.* (1982), con el incremento lógico del número de nódulos al transcurrir el

tiempo. Solamente dos de las cepas (IH-100 e IH-102), en el cv. CIAT-136, nodularon en un tiempo mayor (28 y 25 días respectivamente), lo cual puede llegar a ser un criterio importante para efectuar la selección de cepas, ya que al inocularse en condiciones de suelo, las cepas salvajes existentes pueden competir de forma satisfactoria con estas y producir una infección más rápida en las raíces del huésped. Además, se detectó poca variación en el tiempo de nodulación en los diferentes cultivares, pero esto puede variar en mayor proporción en dependencia de la interacción que exista entre las diferentes cepas y variedades de leguminosas que se encuentran interactuando (Graham y Hubbell, 1974).

Date (1977), en trabajos realizados en Australia, presenta al género *Stylosanthes* con alta variabilidad en sus requerimientos de *Rhizobium*, pues pueden existir especies de amplio rango de nodulación efectiva, otras con amplio rango pero que pocas veces son efectivas y otras de mayor especificidad. En nuestro caso *S. guianensis*

presentó alta especificidad, ya que solamente una cepa de las doce probadas fue capaz de producir incrementos en el rendimiento y en el contenido de N de la parte foliar, aunque otras tres cepas lograron infectar los diferentes cvs. de esa especie produciendo nódulos inefectivos, lo cual se refleja en los bajos rendimientos y contenidos de N producidos por acción de la inoculación de estas cepas al ser comparadas con el control sin inocular y sin nitrógeno. Ello denota una deficiente fijación del nitrógeno atmosférico, y que aunque son capaces de producir nódulos, no realizan un proceso de fijación efectiva.

El grado de efectividad observado no varió grandemente con los diferentes cultivares, ya que en todos los casos el rendimiento, el contenido de N y el número de nódulos producidos por la acción de la inoculación con las diferentes cepas fue similar; se destacó la cepa IH101 que presentó diferencia significativa con el control sin N en todos los cultivares, mostrando el mejor comportamiento en los mencionados parámetros. Dicha cepa (IH-101) posee un amplio rango de nodulación, ya que fue capaz de producir una fijación efectiva en todos los cultivares estudiados, por lo que se perfila como una cepa útil en la inoculación de los diferentes cvs. de esta especie. No obstante, se ha encontrado que puede existir una respuesta variable al inocular una misma cepa en diferentes cultivares de una misma especie (Souto, Coser y Dobereiner, 1972; Edye, Burt, Norris y Williams, 1974; Tang, Tamayo y Castro, 1983). Por ello, se hace necesario profundizar en el estudio de la inoculación en las diferentes especies de

leguminosas y además trabajar en la obtención de cepas de *Rhizobium* capaces de modular efectivamente a un amplio rango de plantas, ya sea dentro del mismo género o especie, ampliando esta investigación con más especies y cultivares.

Es recomendable la inoculación de estos cultivares estudiados de *S. guianensis* con la cepa de *Rhizobium* IH-101, ya que es capaz de incrementar los rendimientos, los contenidos de N y la nodulación de estas plantas con un considerable ahorro de fertilizantes nitrogenados.

REFERENCIAS

- BOWEN, E.J. 1981. *Trop. Grassld.* 15:140
- DATE, R.A. 1977. *Univ. Hawaii. Coll. Trop. Agric. Spec. Pub.* 145
- DUDAR, Y.; MACHADO, R. & PEDRAZA, J. 1975. *Serie Técnico Científica A-10.* EEPF "Indio Hatuey". Matanzas. Cuba. Pág. 2
- DUNCAN, D.B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics.* 11:1
- EDYE, LA.; BURT, R.L.; NORRIS, D.O. & WILLIAMS, W.T. 1974. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 14:349
- FUNES, F.; YEPES, S. & HERNANDEZ, D. 1971. *Memoria de la EEPF "Indio Hatuey"*. Matanzas, Cuba
- GRAHAM, P.H. & HUBBELL, D.H. 1974. *Florida Agric. Exp. Sta. Journal Series* No. 5439. pp. 9
- HALLIDAY, J. 1979. Field responses by tropical forage legumes to inoculation with *Rhizobium*. In: Pasture production in acid soils of the tropics (P.H. Sánchez and L.E. Tergas Eds.) CIAT. Pág. 123
- LOPEZ, MIRTHA; PARETAS, J.J. & SENRA, A. 1975. *Serie Técnico*

- Científica A-6.** EEPF "Indio Hatuey. Matanzas, Cuba. Pág. 8
- MACHADO, HILDA & CHAO, LAURA. 1980. **Pastos y Forrajes.** Revista de la EEPF "Indio Hatuey. Matanzas, Cuba. 3:321
- QUINTERO, M.J. GARZA, T.R. 1978. Screening of *Rhizobium* spp isolates of native and introduced legumes in the tropics. In: Nitrogen in environment, Vol. 1. Nitrogen behaviour in the field soil. (D.R. Nilesen and J.G. McDonald, Eds.). Academic Press. London. pp. 526
- SOUTO, S.M.; COSER, A.C. & DOBEREINER, J. 1972. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira.** 7:1
- TANG, M.; TAMAYO, ESTELA & MARQUEZ, BEATRIZ. 1982. **Pastos y Forrajes.** Revista de la EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. 5:159
- TANG, M.; TAMAYO, ESTELA & CASTRO, RAFAELA. 1983. **Pastos y Forrajes.** Revista de la EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. 6:31