

## SUPERVIVENCIA DE *Rhizobium trifolii* EN TRES PORTADORES\*

Fernando Munévar M.\*\*  
P.H. Graham

### I. INTRODUCCION

La turba es el portador de inoculantes para leguminosas más comúnmente utilizado (Roughley, 1976). En Colombia se han encontrado algunas turbas de buena calidad para fabricar inoculantes en varias localidades de Antioquía como la Estación Experimental "La Selva" en Rionegro. Turbas del Valle de Sibundoy y de sitios cercanos a Bogotá no han dado resultados satisfactorios (Graham *et al.*, 1974). La falta de fuentes de turba de buena calidad en la región central del país constituye un limitante para la fabricación de inoculantes en esa región.

Hasta el momento no se ha determinado si ciertos subproductos orgánicos como el bagazo de caña son adecuados como portadores. Mientras que Leiderman (1971) obtuvo buena supervivencia de *Rhizobium* en este portador, Graham y sus colaboradores (1974), mostraron que la viabilidad del *Rhizobium* bajó muy rápidamente en tal material. Corby (1976) fabricó un portador orgánico utilizando mazorcas de maíz y obtuvo buenos resultados. Otro subproducto de los ingenios azucareros y los trapiches de caña para panela es la "cabeza", pero este material parece no haber sido estudiado como portador.

---

\* Contribución del Programa de Suelos (División de Agronomía) del Instituto Colombiano Agropecuario, y del Programa de Frijol del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Trabajo realizado mientras el primer autor fue becario especial del CIAT, comisionado por ICA.

\*\* Respectivamente: Ingeniero Agrónomo, M.S., Programa de Suelos, Centro Experimental Tibaitatá, Apartado Aéreo 151123, Bogotá; y Líder del Programa de Frijol del CIAT, Apartado Aéreo 6713, Cali.

El carbón vegetal es otro material promisorio como portador. Pramanik e Iswaran (1973) encontraron una buena supervivencia de *Rhizobium japonicum* en carbón vegetal. Strijdon y Deschodt (1976), señalan que se ha encontrado buena supervivencia de *Rhizobium japonicum*, *R. meliloti* y *Rhizobium* del grupo del caupí en varias fuentes de carbón mineral.

Este estudio preliminar se llevó a cabo con el objeto de determinar la calidad de la cachaza y el carbón mineral como portadores de inoculantes para leguminosas.

## 2. MATERIALES Y METODOS

Para este trabajo se utilizó la cepa CIAT 61 de *Rhizobium trifolii*. Los portadores utilizados fueron:

- Turba procedente de la Estación Experimental "La Selva" (Rionegro, Antioquia);
- Cachaza (subproducto de la molienda de caña de azúcar) obtenida de un ingenio del Valle del Cauca y,
- Carbón mineral.

Mayor información sobre el origen y propiedades químicas de la turba se encuentra en el trabajo de Graham *et al.* (1974). La cachaza proveniente del ingenio fue suspendida en agua y luego filtrada por tres días consecutivos para remover impurezas y sustancias solubles. Después del lavado se secó al aire. Los tres materiales fueron molidos y pasados por un tamiz de 100 mallas. La turba y la cachaza fueron mezcladas con  $\text{CaCO}_3$  en una proporción del 10% con base en el peso, a fin de subir el pH.

Los inoculantes se prepararon agregando un cultivo líquido (manitol y extracto de levaduras) de la cepa indicada a cada portador. El cultivo líquido se aplicó en las siguientes proporciones: turba: 0,5 ml/g; carbón: 0,2 ml/g; cachaza: 1 ml/g. No se utilizó la misma proporción de cultivo líquido debido a la diferencia en la retención de agua de los distintos materiales. Los inoculantes se empacaron en bolsas de polietileno, se sellaron y se mantuvieron a una temperatura constante de 28°C.

La población de *Rhizobium trifolii* se determinó inmediatamente después de la inoculación de los portadores y a otros seis tiempos hasta un total de 120 días. Los conteos de células se hicieron por el método del número más probable (NMP) de nodulación de plantas de *Trifolium repens* L. (Broekwell, 1963). Se hicieron diluciones en serie de 10 hasta 1:10<sup>9</sup> por cuádruplicado con excepción del tiempo cero. También se hicieron conteos en las cinco últimas diluciones utilizando plantas en tubos con agar de Jensen para plántulas con pequeñas modificaciones. Para cada repetición se utilizaron cuatro tubos con dos plantas cada uno. La nodulación se determinó 20 días después de inocular las plantas.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados que aparecen en la Figura 1 muestran que la cachaza no presentó condiciones apropiadas para la supervivencia del *Rhizobium trifolii*. Prácticamente todas las células murieron en el término de siete días. La supervivencia en turba y carbón fue buena. Se mantuvo una población aceptable a través del tiempo. El carbón ofreció condiciones ligeramente superiores a la turba. El análisis de varianza (1% de significancia) y una prueba de Student - New-

man-Keul (5% de significancia) indicaron que el número de células de *Rhizobium* fue estadísticamente diferente en los tres portadores a través del tiempo, con excepción del tiempo cero, el cual no fue analizado estadísticamente.

Varios factores pueden estar determinando estas diferencias. Uno de ellos

puede ser el pH de los portadores (Tabla 1). Aunque el pH inicial de la turba está alrededor de 4,5 (Graham *et al.*, 1974), al mezclarse con  $\text{CaCO}_3$  en proporción del 10% su acidez se neutraliza notablemente, lo cual no ocurre con la cachaza utilizando aún proporciones superiores de  $\text{CaCO}_3$  e incubándola por algún tiempo (Tabla 2).

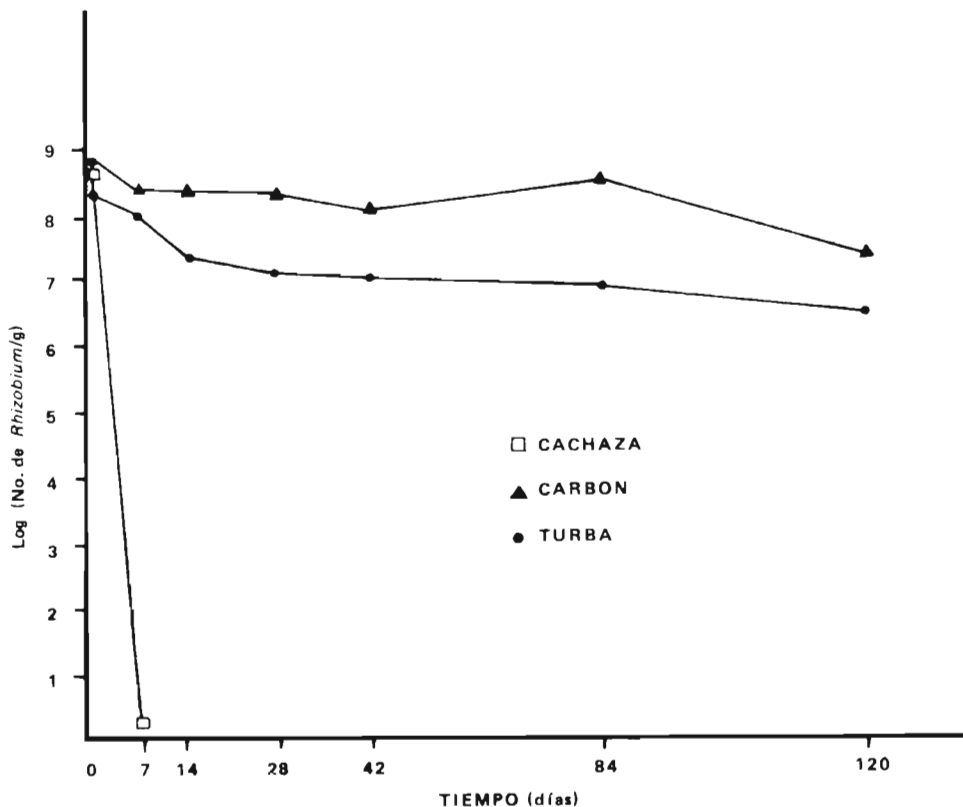


FIGURA 1. Supervivencia de *Rhizobium trifolii* (Cepa CIAT-61) en tres portadores.

TABLA 1. pH de los portadores.

Portador	Relación Sólido - agua	pH
Turba (con 10% de CaCO <sub>3</sub> )	1:5	6,30
Carbón	1:5	6,70
Cachaza	1:6	5,70

TABLA 2. Efecto del CaCO<sub>3</sub> en la acidez de la cachaza.

CaCO <sub>3</sub> Agregado (% en peso)	Tiempo de inoculación (días)	pH
5	—	5,70
10	—	5,70
10	16	5,80
15	—	5,85
20	—	5,95
25	—	6,00
30	—	6,05
30	2	6,15

Los resultados permiten concluir que el carbón mineral es un buen portador para *Rhizobium trifolii*, el cual podría ser utilizado para fabricar inoculantes sin necesidad de ser neutralizado. Parece conveniente estudiar la supervivencia de otras especies de *Rhizobium* en este material y comparar diferentes fuentes de carbón. La cachaza no parece ser un portador adecuado para *Rhizobium* aunque existe la posibilidad de que especies más resistentes a la acidez que el *R. trifolii* puedan sobrevivir.

#### 4. RESUMEN

Se estudió la supervivencia de *Rhizobium trifolii*, cepa CIAT 61 en turba, carbón mineral y cachaza (un residuo de los ingenios azucareros). El *Rhizobium* no sobrevivió en la cachaza pero mostró buena supervivencia en turba y carbón mineral, por lo menos hasta 120 días. El carbón parece ser ligeramente mejor como portador que la turba estudiada. Las diferencias fueron estadísticamente significativas. La falta de supervivencia en cachaza puede deberse a su acidez. Se

sugiere estudiar la supervivencia de otras especies de *Rhizobium* en carbón para confirmar su bondad como portador de inoculantes.

#### 5. SUMMARY

##### Survival of *Rhizobium trifolii* (strain CIAT 61) in three carriers.

The survival of *Rhizobium trifolii* (strain CIAT 61) in three carriers was studied. The rhizobial cells did not survive in "cachaza" (a froth obtained when sugar cane juice is boiled in refineries). The survival in peat and coal was good, at least until 120 days after the inoculation. Coal seems to be slightly better as inoculum carrier than peat. The differences in cell numbers in the three carriers were statistically significant. The low survival in "cachaza" may be due to its high acidity. Studing the survival of other species of *Rhizobium* in coal is suggested to confirm the suitability of this material as legume inoculum carrier.

#### 6. BIBLIOGRAFIA

1. BROCKWELL, J. Accuracy of plan-infection techniques for counting populations of *Rhizobium trifolii*. *Appl. Microbiol.* 11:377-383. 1963.
2. CORBY, H.D.L. A method of making a pure culture, peat-type legume inoculant using a substitute for peat. *In* P.S. Nutmant (ed.). *Symbiotic nitrogen fixation in plants.* 1976. pp. 169-173.

3. GRAHAM, P.H.; V.M. MORALES y R. CAVALLO. Materiales excipientes y adhesivos de posible uso en inoculación de leguminosas en Colombia. *Turrialba* 24:47-50. 1974.
4. LEIDERMAN, J. El bagazo como excipiente de inoculantes para leguminosas. *Rev. Indust. Agric. de Tucumán*. 48:51-58. 1971.
5. PRAMANIK, M. y V. ISWARAN. Survival of *Rhizobium* in various carriers. *Zbl. Bakt. Abt. II*. 128:232-239. 1973.
6. ROUGHLEY, R.J. The production of high quality inoculants and their contribution to legume yield. *In* P.S. Nutman (ed.) *Symbiotic nitrogen fixation in plants*. pp. 125-136. 1976.
7. SRTIJDOM, B.W. and C.C. DESCHODT. Carries of rhizobia and the effect of prior treatment on the survival of rhizobia. *In* P.S. Nutman (ed.) *Symbiotic nitrogen fixation in plants*. 1976. pp. 151-168.