

EL GENERO *BEIJERINCKIA*. SU PRESENCIA EN SUELOS DE MENDOZA

Por MARIA JOSEFA RIGONE DE PRITZ

SUMMARY

One strain of *Beijerinckia indica* var. *alba*, isolated from Mendoza soils (nearly 33 grades L. S.), is studied, and another strain: *Beijerinckia mobile*, isolated in the same region is described.

Azotobacter chroococcum, has also been isolated in one of the samples. *Beijerinckia indica* var. *alba*, show better development, with calcium carbonate.

En el curso de un trabajo para determinar la presencia de *Azotobacter* en suelos de Mendoza, pudimos aislar el género *Beijerinckia*.

Trabajamos con el medio de Fred y Waskman n° 77, con pH 7.6, con el cual obtuvimos desarrollo de *Azotobacter chroococcum* que es la especie predominante en nuestros suelos.

El aspecto de algunas colonias obtenidas en superficie, de dicho medio y el examen microscópico de las mismas, nos indujo a admitir la existencia del género *Beijerinckia*, en los suelos bajo examen: suelos neutros de zonas ubicadas fuera de la región tropical (paralelo 33 de latitud sur).

Beijerinckia es un fijador de nitrógeno aerobio, descrito por STARKEY y DE (12), en suelos ácidos cultivados con arroz, en la India, con el nombre de *Azotobacter indicum*.

DERX (4), trabajando en Java (Indonesia), aisló este microbio, en diversos tipos de suelos; describió sus características y propuso el nombre de *Beijerinckia indica*, basándose en sus caracteres morfológicos y de cultivo.

Este nuevo género es aceptado en general e incluido en la familia de las Azotobacteriáceas. Sus principales caracteres son: bastón recto o ligeramente curvado con dos glóbulos refringentes, uno en cada extremo. Gram negativos, sin endospora, pocas veces móvil. Las colonias forman un mucus extraordinariamente tenaz. Aerobio y fijador de nitrógeno atmosférico en ausencia de nitrógeno combinado. Se lo aisló en suelos con amplia gama de pH, entre 3.5 y 9.

En un informe al VI Congreso Internacional de Microbiología, Roma 1953, DERX (5), llama la atención sobre la distribución geográfica de este género, aparentemente circunscripto a regiones tro-

picales. Intenta una explicación de la misma sugiriendo la relación, de este género, con *Rhizobium*.

Este último género fija nitrógeno, únicamente, en simbiosis con leguminosas y DERX admitió su probable derivación de *Beijerinckia*; en consecuencia serían los cultivos de leguminosas (en particular *Vigna sinensis* de regiones tropicales), los que explicarían esta distribución geográfica limitada. Al respecto HERRERA (9), estudió la influencia del pH sobre el *Rhizobium* obteniendo desarrollo a pH 3.2, pero con grandes variaciones morfológicas y ya no infectivas, aunque capaces de reproducir la forma normal y ésta sí infectiva.

VISONA (14), aísla cepas de *Rhizobium* capaces de nodular en medio ácido de pH 4.5, aunque la eficiencia de las mismas es mayor a pH 7.

Azotobacter es un género incapaz de desarrollar a pH inferiores a 5.9-6.0. TCHAN (13), que estudió la distribución de *Beijerinckia* en Australia, lo considera limitado al norte del paralelo 20 latitud sud.

En América del Sud, lo estudiaron DOBEREINER y DE CASTRO (6, 7, 8), para suelos del estado de Río de Janeiro, Brasil.

RUINEN (11), lo determina en forma preponderante en la filofera de Indonesia. Los estudios más amplios sobre la distribución geográfica de *Beijerinckia*, son los de BECKING (1, 3), que examinó 400 muestras de suelo originarias de Europa, Africa, Asia, Australia, Norte y Sud América.

En Europa, los halló únicamente en suelos de Yugoslavia, siendo negativas las determinaciones en suelos de Holanda, Alemania, Francia e Italia. Los únicos suelos no tropicales positivos para *Beijerinckia* fueron de Yugoslavia, Sud Africa, India (alturas del Himalaya), y Japón. De los suelos tropicales 9 % contenían *Beijerinckia* y 38.5 % *Azotobacter*.

BECKING considera que la distribución geográfica de este género, está influenciada en primer lugar, por el tipo de suelo. Dado que los suelos tropicales que examinó eran en un 62 % del tipo laterítico y de este tipo 63 % resultó positivo para *Beijerinckia*, considera que este género estaría adaptado a la composición química de los mismos y en este caso puede haber competencia con *Azotobacter*. Como los suelos lateríticos, son propios de regiones tropicales, esta sería la razón de su distribución geográfica. En dicho trabajo, para América del Sud, se señala su presencia en Trinidad, Suriname, Venezuela, Brasil y Bolivia.

En el presente trabajo lo detectamos, en primer lugar, en una muestra procedente de Tupungato, suelo fresco, secado en laboratorio y tamizado. El lugar de extracción de la muestra es un monte de nogales (interfilares), próximo a la Villa Tupungato, donde se usaron leguminosas como abono verde, pH de la muestra 7.5.

METODOS

Los cultivos de enriquecimiento y posteriores aislamientos se hicieron en el medio de Fred y Waksman nº 77, con glucosa como fuente de carbono. Se prepararon medios con distintos pH: 7.6; 7.2; 6.9; 6.5.

Allí se obtuvieron colonias elevadas, cristalinas, bien brillantes, más o menos redondeadas, que gotean abundantemente en la tapa de la caja. El mucus, es una sustancia tenaz, que puede compararse a los mejores adhesivos.

BECKING (2) estudió la nutrición mineral especialmente para *Beijerinckia indica* str. Hawai 3/1, demostrando que la misma no requiere calcio para su desarrollo y fijación. Como nuestro aislamiento y cultivo inicial se hizo sobre medio que lleva carbonato de calcio, probamos una serie de medios modificados sin calcio.

En el medio indicado por BECKING (1), que contiene cloruro férrico y molibdato de sodio pH5, desarrolló pero con colonias menos mucosas y de menor tamaño que en el medio original. También se probó el medio usado por el mismo autor (2), con otros elementos menores además de Fe y Mo: Mn, Zn, Cu y de pH 6.9.

Se obtuvo un desarrollo similar al anterior siempre menor que en el medio original que lleva carbonato de calcio. La relación de esta especie con el elemento calcio, será objeto de un análisis posterior ya que por los resultados obtenidos no puede considerársela como especie "calcífoba". Además los suelos de los cuales se la aisló están bien dotados de calcio.

Desarrollo en otros medios:

No desarrolla en caldo nutritivo.

No usa levulosa como fuente de carbono.

Usa poco: melibiosa, manitol, glicerina, almidón.

Desarrolla bien con sacarosa, maltosa, galactosa y glucosa.

Observaciones microscópicas:

1) En preparados negativos con nigrosina se hicieron mediciones de los bastones cuyo tamaño va de 1.6 a 2.2 x 0.6 a 1.2.

2) Coloración de Gram: negativos.

3) Coloración con azul de metileno: se colorea el mucus extracelular: en general las células exhiben mucus irregular en su contorno, que se colorea de azul y en la célula, se colorea la condensación citoplásmica entre los dos glóbulos refringentes de los extremos, que aparecen, en esta coloración, como vacuolas.

4) Con violeta-sulfo no se colorea el mucus, si se colorea toda la célula y esta coloración es bien densa en la zona de los glóbulos de grasa.

5) Coloración de Sudam III. Se adicionó al frotis con HCl al 2 % calentado levemente. Luego se la trató con Sudam III a saturación en solución alcalina al 70 %: los glóbulos negros.

6) Se hicieron también coloraciones con fucsina fenicada de Zhiel y coloración de cápsula según Anthony modificada por Tyler, que no agregaron mayores detalles a las coloraciones anteriores.

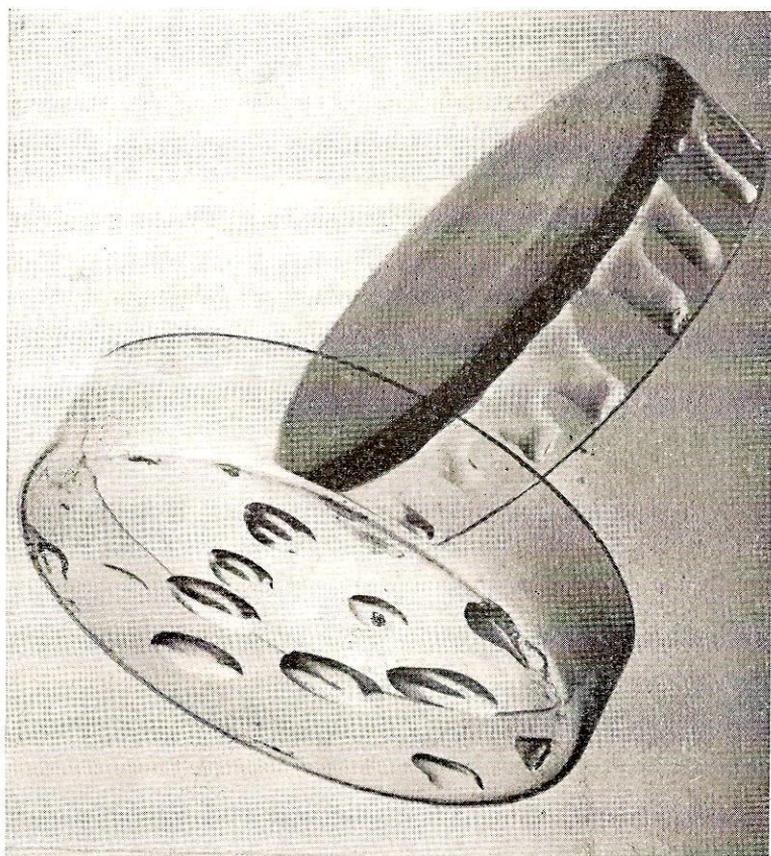


Figura 1

Consideraciones con respecto al pH:

Según BECKING (1), en su examen de 400 muestras, no halló *Beijerinckia* a menos de pH 7.4. En nuestro caso se la halló a pH 7.5.

Este autor considera que la ausencia de *Beijerinckia* en suelos alcalinos no se debe al factor pH sino a la competencia con *Azotobacter*. Además al cultivarlo a pH intermedios: 4 a 8, no observó cambios de reacción en el medio.

QUINNELL (10), encuentra acidificación del medio cuando cultiva a pH 6. Esta diferencia, depende naturalmente de la cepa usada. En nuestro caso, no se observó acidificación del medio, ni competencia con *Azotobacter*: en la misma muestra se aisló *A. chroococcum*.

Beijerinckia fue posteriormente determinada en los siguientes suelos de Mendoza:

1. Tupungato - La Quebrada, plantación de pinos pH 7.5, muestra de 0-30 cm de profundidad, n° 25 de nuestra colección.
2. Tupungato - La Carrera, 0-20 cm de profundidad, n° 10 de nuestra colección.
3. Tupungato, cerca de la Villa, entre un monte de manzanos y otro de nogal, se halló el probable *B. mobile*.

CONCLUSIONES

Las características morfológicas y culturales de la especie descrita hacen considerarla *Beijerinckia indica* var. *alba*. No disponemos de una colección de estas cepas de otra procedencia, pero la comparación fotográfica evidencia similitud (fig. 1).

En cuanto a la cepa aislada posteriormente, *Beijerinckia mobile*, con colonias más achatadas, mucus más tenaz, coloración blanquecina que se torna rojiza al cabo de 10 a 12 días y algo pardas cuando envejecen.

En la misma muestra se aisló un tipo similar, cuyas colonias disgregan en cuanto a color: unas permanecen de color blanco que vira al "beige", al envejecer, y otras se tornan rojizas, como se ha descrito para *Beijerinckia mobile*.

RESUMEN

Se examina la bibliografía que se dispone sobre el género *Beijerinckia*. Se describe una cepa de *Beijerinckia indica* var. *alba*, aislada en tres muestras de suelos de Mendoza, aproximadamente a 33 grados de latitud sud.

Se describen los caracteres, culturales de otra cepa: *Beijerinckia mobile*, aislada en otra muestra de la misma región.

En la muestra de suelo con que se hizo la descripción original, se halló también *A. chroococcum*. Para dicha cepa de *B. indica* var. *alba* se comprobó mejor desarrollo en presencia de carbonato de calcio.

BIBLIOGRAFIA

1. BECKING, J. H. *Plant and Soil* XIV (1) 49-81, 1961.
2. — *Plant and Soil* XIV (4) 297-322, 1961.
3. — *Plant and Soil* XI (3) 193-205, 1959.
4. DERX, H. C. *Proc. Kon. Akad., v. Wetensch. Amsterdam* 53, 138-147, 1950.
5. — *Atti del VI Congr. Int. di Microbiol.* 6, Sez. XVIII. 354-355. Roma.
6. DOBEREINER, J. e DE CASTRO, A. F. *Bol. Inst. Ecol. Esp. Agr.* 16, 18 p. 1955.
7. DOBEREINER, J. *Bol. Inst. Exp. Agr.* 11, 31 p. 1953. Río de Janeiro, Brasil.
8. DOBEREINER, J. e A. P. RUSCHEL. *Rev. de Biol.* 1 (3-4) 261-272, 1958, Brasil.
9. HERRERA, E. G. DE. *An. Edafol. Fisiol. Veg.* XV (2), Madrid, 1956.
10. QUINNELL, C. M. *J. Bact.* 73 (5) 688-689, 1957.
11. RUINEN, J. *Nature* 177, 120-221, 1956.
12. STARKEY, R. L. and DE P. K. *Soil Sci.* 47, 329-343, 1939.
13. TCHAN, Y. T. *Proc. Linn. Soc. N. S. Wales*, 78, 171-178, 1953.
14. VISONA, L. *Genetica Agrar.* XVI, 1-2, 1952. Pavía Italia.