



# INFLUENCIA DE LA INTERACCIÓN ENTRE EL CULTIVO DEL GARBANZO (*Cicer arietinum* L.) Y LA INOCULACIÓN CON CEPAS SELECCIONADAS DE *Mesorhizobium* spp.

## Influence of chickpea (*Cicer arietinum* L.) interaction and the inoculation of selecting strains of *Mesorhizobium* spp.

Marisel Ortega García<sup>1</sup>✉, Tomás Shagarodsky Scull<sup>1</sup>,  
Bernardo L. Dibut Álvarez<sup>1</sup>, Yoania Ríos Rocafull<sup>1</sup>,  
Grisel Tejeda González<sup>1</sup> y Luis A. Gómez Jorriñ<sup>2</sup>

**ABSTRACT.** The availability of microorganism strains with growth promoting effect on economically important species is one of the main aspects for elaborating bio-products, contributing to the sustainability of the production systems. The aim of this research was to select effective strains of *Mesorhizobium* sp to increase the yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.), due to the variability shown by the INIFAT GR-1 strain over the last years, which is recommended in the technical instructions for this cultivar. Positive strains were purified and performed to conduct a morphological, physiological and biochemical characterization of the isolates, allowing the inclusion of two of them in the *Mesorhizobium* genre. The strain metabolic characterization showed its superiority with respect to INIFAT GR-1, as indicated by the increase in the phosphorus solubilization halo of 0,18 cm, and an increase of indol acetic acid (IAA) production ranging between 7-12  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Its compatibility *in vitro* with *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megatherium* var *phosphaticum*, and *Bacillus subtilis*, as well as, with pesticides as Poncho, Celest Top, Gaucho FS-60, Gaucho MT, Yunta, Celest, TMTD, Cropstar and Apron Star was tested. Regarding the effects under field conditions, both strains promotes chickpea growth, development and yield (pods and grains), with values statistically superior to the pattern employed. They were growth in shaker conditions at 200 r.p.m. and 32 °C of temperature with a final concentration of  $10^{11}$  UFC.mL<sup>-1</sup>. The uses of the better strains produce the increase of Nacional-29 variety yield in 42 %, in comparison with no treated plants.

**RESUMEN.** Contar con cepas microbianas que permitan la estimulación del crecimiento de especies vegetales de interés económico, es uno de los aspectos fundamentales a tener en cuenta para la elaboración de bioproductos que contribuyan a la sustentabilidad de los sistemas de producción. El objetivo de este trabajo fue seleccionar cepas de *Mesorhizobium* sp, efectivas para el incremento de los rendimientos en el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.), debido a la variabilidad que en los últimos años mostró la cepa INIFAT GR-1, recomendada en el Instructivo Técnico del mismo. Las cepas que resultaron positivas fueron purificadas y se les realizó una caracterización morfológica, fisiológica y bioquímica, mediante veinticuatro pruebas, que permitió la inclusión de dos de ellos dentro del género *Mesorhizobium*. La caracterización metabólica de estas cepas evidenció su superioridad con respecto a la INIFAT GR-1, teniendo en cuenta que presentan un aumento del halo de solubilización de fósforo de 0,18 cm y un incremento en la capacidad de producir ácido indol acético (AIA) entre 7 y 12  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Demostró, en condiciones *in vitro*, su compatibilidad con *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megatherium* var *phosphaticum*, y *Bacillus subtilis*, y los plaguicidas Poncho, Celest Top, Gaucho FS-60, Gaucho MT, Yunta, Celest, TMTD, Cropstar y Apron Star. Respecto a los efectos bajo condiciones de campo ambas cepas propiciaron el crecimiento, desarrollo y rendimiento del garbanzo (vainas y granos) con valores estadísticos superior a los patrones empleados. Las cepas fueron crecidas en zaranda rotatoria a 200 r.p.m. de agitación a 32 °C de temperatura de las que se obtuvo una concentración final de  $10^{11}$  UFC mL<sup>-1</sup>, aproximadamente. El empleo de los mejores aislados provocó un efecto estimulador sobre el rendimiento de la variedad Nacional-29, superior al 42 %, con relación a las plantas controles.

**Key words:** strategy, stimulation, increase

**Palabras clave:** estrategia, estimulación, incremento

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT), La Habana, Cuba

<sup>2</sup> Instituto de Suelos (IS), La Habana, Cuba

✉ biofersuelos@inifat.co.cu

## INTRODUCCIÓN

Conocer las respuestas fisiológicas y estudiar la planta a nivel básico, permite lograr una interacción eficiente de acuerdo a sus componentes genéticos que permitan incrementar los beneficios de los inoculantes microbianos (1). De ellos los rizobios constituyen un grupo de microorganismos que establecen interacciones con plantas leguminosas, las que posibilitan procesos como la adhesión, deformación y curvatura del pelo radical, formación del cordón de infección, división de las células corticales, liberación de bacterias en el nódulo en formación, diferenciación a bacteroide, constitución final del nódulo y por último el proceso de fijación biológica del dinitrógeno (2). Los genes Nod son los encargados de la nodulación en diferentes leguminosas, por lo que están presentes en todas y cada una de las interacciones, razón que define la alta especificidad de la asociación (3).

El conocimiento acerca de la existencia de las bacterias simbióticas de este tipo se remonta a 1888. En Cuba, estos estudios comenzaron en los años 60, fundamentalmente en leguminosas forrajeras. En esta década se enriquecieron las investigaciones y se conformó, por primera vez, un programa de recursos genéticos microbianos en el país. Entre 1985 y 1990 se inicia la producción, a escala artesanal, de inoculantes para beneficiar algunos cultivos (4).

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) se sitúa en la lista de las leguminosas más cultivadas después de la soya (*Glycine max*) y los frijoles (*Phaseolus* sp). Fue introducido en Cuba por los españoles y ha sido sembrado a pequeña escala desde el período colonial. Numerosos intentos por adaptar este grano han tenido éxito en los últimos 40 años en zonas del Valle de Caujerí, Guantánamo, Banao y Sancti Spíritus (5), demostrándose que es posible su producción en el país.

En los últimos años, se han dedicado considerables superficies a la siembra de este cultivo, aunque la cepa INIFAT GR-1, que ha formado parte de su paquete tecnológico ha mostrado alta variabilidad en su comportamiento, y no se han obtenido, los efectos esperados con su aplicación, en cuanto a la respuesta del cultivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo correspondiente al aislamiento y caracterización de las cepas de *Mesorhizobium*.sp, se realizó en el Laboratorio de Agrobiotecnología, del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT), ubicado en Santiago de Las Vegas, municipio Boyeros, provincia La Habana, Cuba.

Para el aislamiento se utilizaron raíces de 20 plantas de garbanzo de diferentes zonas del país: las Tunas, Artemisa y La Habana, provenientes de las variedades Nacional-27, Nacional-29 y Jamu-96. Los nódulos se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 5 % y se lavaron dos veces con agua destilada estéril; los mismos se maceraron en un tubo de ensayo. El extracto obtenido se sembró, sobre medio LMA con Rojo Congo<sup>A</sup>. Las colonias crecidas se purificaron por agotamiento, fijando condiciones para su crecimiento de 28-30 °C de temperatura durante 72 horas.

A los aislados obtenidos se les realizó la caracterización metabólica que incluyó el crecimiento de los mismos en medio LMA sin Rojo Congo, en placas Petri de 9 cm posterior a las 72 horas de incubación a 30 °C de temperatura (6). La caracterización microscópica se determinó mediante la tinción de Gram y demostración de la presencia de cápsula. Se ejecutaron las siguientes pruebas: presencia de enzimas (oxidasa, catalasa); degradación de almidón y proteínas como gelatina y caseína. Utilización de citrato como fuente de carbono, producción de Indol a partir del triptófano, motilidad, Vogues Proskauer, Rojo de Metilo. También el uso de azufre a partir del crecimiento en medio Kliger y utilización de azúcares: manitol, maltosa, dextrosa, glucosa, fructosa, sacarosa y lactosa. Además, se determinó la degradación de celulosa y producción de ácido en el medio de cultivo LMA<sup>B</sup>. Todos los ensayos fueron montados por triplicado.

Para la identificación se compararon los resultados obtenidos con la caracterización de la especie según el Manual de Sistemática para Bacterias (Bergey).

El potencial de solubilización se determinó en condiciones *in vitro*, a partir del crecimiento bacteriano sobre el medio Pikosvkaya<sup>A</sup>. El medio se esterilizó en autoclave durante 30 minutos a 121 °C y 1,5 atmósferas. Las placas Petri de 9 cm se mantuvieron a 30 °C de temperatura durante 48 horas, para cuantificar el halo de solubilización formado. Se realizaron tres réplicas para cada cepa, las que se sembraron por el Método de Colonia Gigante. El experimento se repitió en tres ocasiones.

Además se determinó la producción de ácido indol acético (AIA) siguiendo la metodología descrita (7). El experimento se realizó con tres repeticiones por cepa y como control negativo se utilizó el medio sin inocular. También se evaluó la compatibilidad de las cepas que se determinó mediante el Método de Difusión Zonal en Placas (6), utilizando como base el

<sup>A</sup> Bécquer, C. J. *Caracterización y selección de rizobios aislados de leguminosas nativas de Sancti-Spíritus, Cuba*. [Tesis de Doctorado], Universidad de La Habana, La Habana, Cuba, 2002.

<sup>B</sup> Martínez, V. R.; López, M.; Dibut, B.; Parra, C. y Rodríguez, J. *La fijación biológica del nitrógeno atmosférico en el medio tropical*. edit. MPPAT, Caracas, 2007, 190 p.

medio de cultivo Agar Mueller-Hinton inoculado con las cepas de *Mesorhizobium* sp seleccionadas.

Los pocillos de 7 mm de diámetro, se rellenaron con productos elaborados a partir de la fermentación de cepas de *Azotobacter chroococcum* (cepa INIFAT-12), *Bacillus megatherium* var *phosphaticum* (INIFAT Bmcub II) y *Bacillus subtilis* (INIFAT-101), todas ellas pertenecientes a la Colección de Microorganismos Beneficiosos del Departamento de Agrobiotecnología del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT). Después de 48 horas de incubación a 30 °C de temperatura se determinaron las dimensiones del halo de inhibición presente en el medio. Para el resultado final se promedió el valor obtenido en las tres repeticiones realizadas. Para la evaluación de los resultados obtenidos se utilizó la escala propuesta (4), donde se considera que un halo de 0–0,25 cm (compatibles), de 0,26–0,50 cm (medianamente compatibles) y superior a 0,50 cm (incompatibles).

Los experimentos se ejecutaron sobre suelo Ferralítico Rojo (8) perteneciente a zonas agrícolas del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt", INIFAT, Santiago de las Vegas, durante tres campañas entre los años 2009-2012, con la variedad Nacional-29. Se empleó un diseño experimental de Bloques al Azar con cuatro réplicas, un tamaño de parcela de 30 m<sup>2</sup>, seis surcos y cuatro tratamientos, para la evaluación se desecharon los bordes.

La aplicación del producto se realizó a partir de una suspensión del mismo en agua común a razón de 1:10 (v:v), embebiendo la semilla durante 10 minutos. Posterior al oreo se procedió a la siembra.

Se evaluaron como indicadores de crecimiento la altura de la planta, peso total de la planta, diámetro del tallo y peso seco de los nódulos. Se determinó además, de forma cualitativa, la presencia de nódulos en las raíces primarias y secundarias y la presencia de leghemoglobina (tonos de rosados a rojos) para los aspectos de mayor incidencia en la producción, se analizó el número y peso de las vainas y los granos por planta (9).

Los resultados de los experimentos realizados en condiciones de laboratorio *in vitro* fueron procesados teniendo en cuenta un Diseño Completamente Aleatorizado utilizado para su ejecución, mientras que los obtenidos en la fase experimental ejecutada en condiciones de campo fueron procesados considerando el Diseño de Bloques al Azar. Las diferencias significativas entre las medias de los tratamientos para las variables analizadas se discriminaron según la prueba de Rangos Múltiples de Duncan al 5 % de significación. El procesamiento de toda la información se realizó mediante el programa STATGRAPHICS Plus Versión 5.1 (10).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir del muestreo realizado a 20 plantas de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) pertenecientes a diferentes variedades, se purificaron cinco aislados que mostraron las características típicas del género *Mesorhizobium*. En este caso se crecieron en medio LMA (colonias entre 0,1 y 0,3 cm de diámetro a las 48 horas de sembradas en el medio de cultivo, incubado a 32 °C de temperatura) (6).

El objetivo de esta etapa de trabajo fue buscar heterogeneidad en la selección, para diseñar una estrategia basada en una amplia diversidad genética del cultivo, según las condiciones edafoclimáticas imperantes en cada región, para obtener inoculantes con mayor espectro de acción (11).

Referente a la descripción macromorfológica, los cinco aislados muestran mediante prueba de Tinción de Gram, que todos son Bacilos cortos Gram negativos y tienen presencia de cápsula. Todos coinciden con las características descritas para el género *Mezorhizobium*, por lo que, desde el punto de vista morfológico, no se puede descartar ninguno de ellos, para ser utilizados en la biofertilización del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.)<sup>A</sup>.

La caracterización fisiológico-bioquímica (Tabla I), permitió diferenciar los microorganismos y eliminar a los aislados RM-2, RM-4 y RM-10 por presentar una reacción almidón positiva, respuesta que no coincide con las características al que pertenece el género implicado (6).

Además de estas existen diversas características distintivas entre los géneros de rizobios. Por ejemplo *Azorhizobium* contiene cepas que forman nódulos de raíz y de tallo y fijan nitrógeno en condiciones de vida libre. *Bradyrhizobium* crece lentamente y producen álcali en medio YMA, mientras que *Allorhizobium*, *Rhizobium* y *Sinorhizobium* crecen rápido y producen ácido en ese medio de cultivo. En el caso que nos ocupa como es el género *Mesorhizobium*, presenta colonias de crecimiento lento o moderado y produce ácido en medio LMA<sup>A</sup>. El mismo incluye bacterias que presentan un alto grado de especificidad, que solo nodulan una muy estrecha gama de especies vegetales, por lo que se hace imprescindible una estrategia de manejo adecuada que permita contar con cepas que establezcan una relación eficiente (12).

A partir de estos resultados, el trabajo continuó solamente con las cepas R-1 y R-3, ya que son las que reúnen las características correspondientes al género *Mesorhizobium*, y por lo tanto, son las que presentan posibilidades en cuanto a inducir la nodulación en el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L), dada la especificidad de este microorganismo con su hospedero (13).

**Tabla I. Caracterización fisiológico-bioquímica de los cinco aislados purificados**

Aislado	Ox	Cat	Cit	Alm	Ind	Gel	Cas	Mot	VP	RM	Kli	Cel	YMA ácido
RM-1	+	+	+	-	-	-	0.9	+	-	-	-	-	+
RM-2	+	+	+	0.6	-	-	0.2	+	-	-	-	-	-
RM-3	+	+	+	-	-	-	0.7	+	-	-	-	-	+
RM-4	+	+	+	0.7	-	-	0.2	+	-	-	-	-	-
RM-10	+	+	+	1.3	-	-	0.1	+	-	-	-	-	-

Ox: oxidasa      Cat: catalasa      Alm: almidón      Ind: producción de indol a partir del triptófano      Gel: gelatina  
 Cas: caseína      Cit: utilización de citrato como fuente de carbono      Mot: motilidad      VP: VoguesProskauer  
 M: Rojo de Metilo      Klig: uso de azufre a partir del crecimiento en medio Kligler      Cel: Degradación de celulosa  
 LMA ácido: Producción de ácido en medio YMA

Para estas cepas se completó la caracterización fisiológica-bioquímica mediante la determinación de la utilización de algunos azúcares como fuente de carbono tales como (fructosa, glucosa, sacarosa, lactosa, maltosa, dextrosa y manitol) todos mostraron resultados positivos<sup>A</sup>.

Para los rizobios se define su taxonomía sobre la base de la filogenia de los genes 16S rRNA, algunas características fenotípicas permiten distinguir entre los diferentes géneros. El estudio morfológico y fisiológico que comúnmente se lleva a cabo para la caracterización de estos microorganismos, permite al menos diferenciar géneros muy diferentes fenotípicamente entre sí como *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* y la familia *Rhizobiaceae* (12).

Las cepas R-1 y R-3 fueron sometidas a un estudio más profundo de caracterización, para determinar su potencial metabólico, y posteriormente poder valorar la posibilidad de sustituir, con alguna de ellas, a la INIFAT GR-1, en la biofertilización del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.).

La solubilización de fósforo es un proceso de gran importancia para los cultivos implicados en la interacción planta-microorganismo, ya que es uno de los componentes principales del ácido ribonucleico y desoxiribonucleico, además de ser el portador de energía de la molécula adenosina trifosfato (ATP) y de sus dos precursores mono y difosfato (AMP y ADP). Su presencia en las moléculas de ADN de los cromosomas permite los procesos de almacenamiento, replicación y conjuntamente con el ARN, la transcripción de información genética. Este elemento es regulador de la vegetación, por tanto es un factor que favorece los períodos críticos como son: la fecundación, maduración y movimiento de las reservas de la planta (14).

La presencia de este nutriente tiene gran importancia para la fijación biológica de nitrógeno durante la interacción rizobios-leguminosa, afectando, la carencia del mismo, el correcto funcionamiento del nódulo, por lo que la estimación de la actividad solubilizadora es sin dudas una herramienta para la selección de materiales (cepas) promisorios para la

biofertilización, teniendo en cuenta que con la actividad solubilizadora, los microorganismos pueden aportar entre el 20-40 % de las necesidades de este nutriente para el cultivo (12).

Según los resultados que se muestran en la Figura 1 las cepas R-1 y R-3 presentan un halo de solubilización superior a 0,25, incluso superan en un alto por ciento a la cepa INIFAT GR-1 en la solubilización de fósforo *in vitro*, por lo que se puede inferir que las mismas tienen potencial para incrementar la disponibilidad de este nutriente, teniendo en cuenta la concordancia de estas pruebas con el comportamiento de los microorganismos en su ambiente natural (15).

Para los rizobios se describe la capacidad de solubilizar el fósforo contenido en el suelo mediante la acción de las enzimas fosfatasas y ácidos orgánicos, entre otras sustancias, al igual que las *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacter*. Que las cepas presenten la dualidad en cuanto a la fijación de nitrógeno y solubilización de fósforo con tenores apreciables, resultan de interés para la elaboración de productos multipropósitos que beneficien los cultivos, y tiene, por lo tanto, particular trascendencia en este trabajo.

Otro proceso no menos importante, es la producción de fitohormonas por parte de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, particularmente, el ácido indol acético (AIA). Mediante su liberación por parte de los microorganismos, se estimula el crecimiento de los cultivos a partir de diferentes mecanismos fisiológicos (12).

Además posibilita la penetración del *Rhizobium* mediante el intercambio de señales bioquímicas diversas emitidas por el macro y microsimbionte. Este proceso infectivo, regulado y complejo, culmina con la formación en la planta de una estructura altamente organizada: el nódulo, que puede considerarse como un nuevo órgano de la misma. En el mismo la bacteria se diferenciará en su forma endosimbionte fijadora de nitrógeno atmosférico (bacterioide). La transformación del microorganismo es tan importante que el mismo puede multiplicarse en vida libre y fijar nitrógeno en medios sintéticos especiales, pero no en ausencia del

hospedero, existiendo con frecuencia una marcada especificidad entre ambos (4).

En el presente trabajo se valoraron los niveles de liberación de esta sustancia por parte de las dos cepas de *Mesorhizobium*, las mismas muestran valores de 20 µg mL<sup>-1</sup> con clara superioridad con respecto a la cepa INIFAT GR-1. Para este grupo de microorganismos se refiere la presencia de esta hormona dentro de sus productos metabólicos, y se atribuye a la misma, parte del efecto estimulador del crecimiento que se obtiene mediante su aplicación. Estos resultados guardan relación con lo reportado por otros autores para el género (16).

Existen estudios que demuestran la posibilidad de aplicar rizobios con otros microorganismos con potencial biofertilizante y demuestran efectividad de la inoculación combinada. En este estudio se demuestra que las dos cepas pueden combinarse con *Azotobacter chroococcum* (cepa INIFAT-12), *Bacillus megatherium var phosphaticum* (cepa INIFAT Bmcub II), y *Bacillus subtilis* (cepa INIFAT-101), al igual que con la INIFAT GR-1, ya que todas son compatibles por presentar halos de inhibición del crecimiento bacteriano entre 0,07-0,12 cm. Lo que demuestra que en un futuro se podrían realizar investigaciones donde se exploten los beneficios de las coinoculaciones de estos microorganismos (6).

Como parte de la caracterización a la que fueron sometidas las cepas de *Mesorhizobium* se incluyó su relación *in vitro* con plaguicidas químicos que tienen posibilidades de ser aplicados en el manejo del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.), teniendo en cuenta que este cultivo es altamente sensible a enfermedades, fundamentalmente a la afectación de hongos del suelo e insectos.

Existe coincidencia con la respuesta de los productos Cropstar y ApronStar, los que resultaron compatibles para las cepas de *Mesorhizobium* R-1 y R-3. Así como Poncho, Celest Top Gaucho FS-60 y Celest como medianamente compatibles con resultados muy similares a los que se evidencian frente a la INIFAT GR-1. Se destacan por su toxicidad los productos Gaucho MT, Yunta y TMTD. Resulta evidente la agresividad del Thiram como sustancia activa que compone dos de estos plaguicidas, por lo que se debe tener en cuenta para estudios posteriores con otros cultivos, los resultados obtenidos y valorar su compatibilidad específica con cada cultivar, para evitar así errores de manejo agrícola.

La influencia de la concentración de los productos utilizados puede condicionar la acción inhibitoria en algunos casos, teniendo en cuenta que los mismos se trabajaron de forma pura. Al disminuir su dosis, los efectos deben ser más leves sobre los microorganismos. Además, las condiciones *in vitro* implican una interacción máxima entre la sustancia química y la bacteria, lo que igualmente eleva la

probabilidad de obtener resultados negativos. No obstante, la sensibilidad de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal ante la presencia de fungicidas se describe también por otros autores<sup>c</sup>.

De forma general, se considera que las cepas R-1 y R-3 podrían combinarse con los plaguicidas químicos, al igual que la cepa INIFAT GR-1, lo que sin dudas, sería de gran utilidad en la búsqueda de una propuesta de manejo integral del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.).

En la Tabla II se puede apreciar el potencial de ambas cepas de *Mesorhizobium* para estimular diferentes indicadores de crecimiento y desarrollo del cultivo del garbanzo, aunque se destaca la cepa R-3 con mayores incrementos en todos los indicadores de crecimiento y desarrollo evaluados.

Los resultados obtenidos demuestran un adecuado desarrollo del cultivo, así como el establecimiento de una relación positiva en la asociación planta y microorganismo que determinan el comportamiento de la especie vegetal. Además, brindan criterios para evaluar el desarrollo de la planta y su respuesta ante el tratamiento biológico; de ahí la necesidad de un régimen balanceado nutrición-biofertilización.

Durante la fase de desarrollo reproductivo, que se encuentra entre los 60 y 80 días, y que constituye una de las más importantes, al coincidir con el llenado del grano, requiere de mayores suministros para compensar la demanda y lograr el rendimiento esperado, por lo que la biofertilización juega un importantísimo papel, ya que coloca a disposición de la planta, los niveles de nitrógeno adecuados y el aporte de fósforo mediante la solubilización (14).

Los nódulos se ubicaron fundamentalmente en la raíz principal, en forma de racimos de gran tamaño. En las raíces secundarias se detectó su presencia, caracterizada por un menor volumen en los mismos. En ambos casos se demostró, la presencia de la leghemoglobina, particularmente para las variantes inoculadas con las cepas R-1 y R-3. Este aspecto resulta muy importante porque demuestra que el proceso de fijación biológica de nitrógeno se realiza de forma efectiva, por lo que la asociación entre microorganismos y hospedero es satisfactoria (5).

Este trabajo permitió evaluar la ventaja de utilizar cepas autóctonas con alta capacidad de competencia, provenientes de nódulos de diferentes regiones y que muestran su potencial biológico. Teniendo en cuenta la efectividad de la asociación, inferida a partir del incremento en los indicadores de crecimiento, desarrollo y rendimiento evaluados, se puede concluir que las cepas utilizadas son capaces de competir con las nativas.

<sup>c</sup> Albretch, J.; Fontanetto, H. y Sillón, M. Informe sobre el cultivo del garbanzo. Red de Agricultura de Precisión. Fitopatología, Inst. Departamento de Producción Vegetal-FCA UNL INTA EEA, Córdoba, 2011, p. 15.

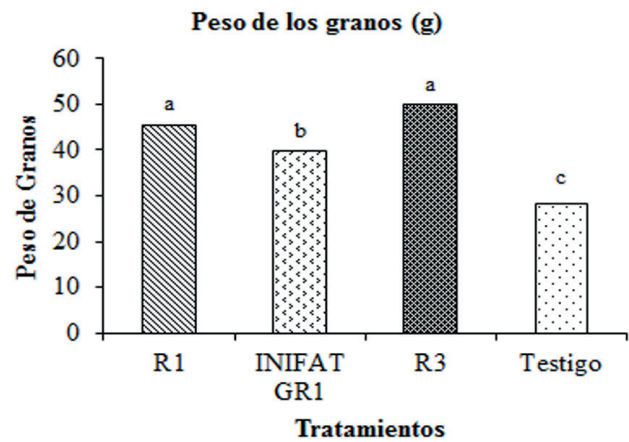
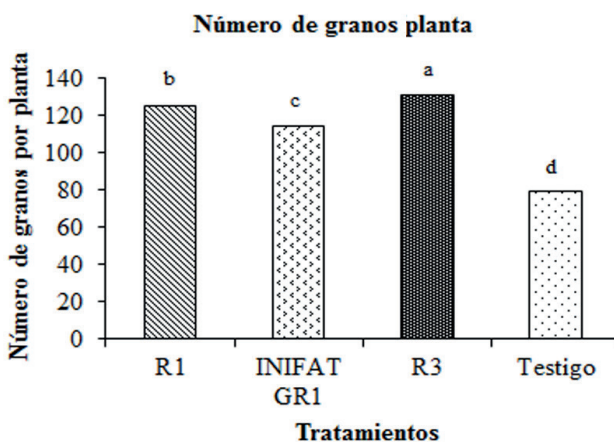
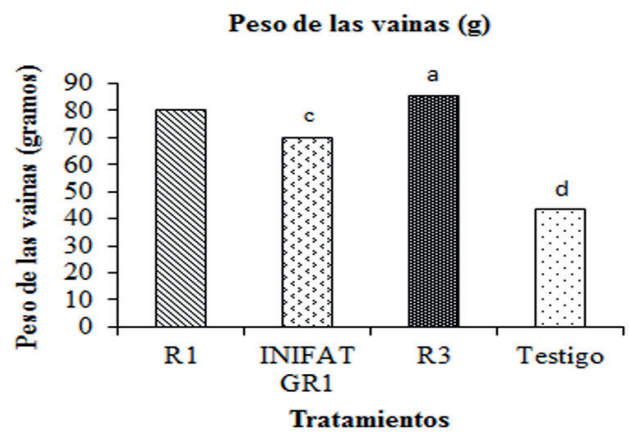
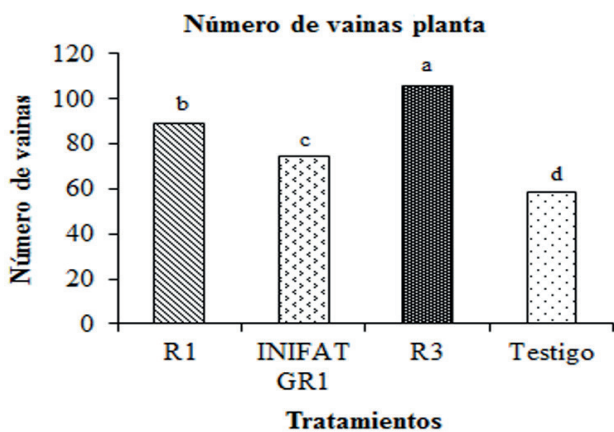
Resulta evidente la importancia de una correcta selección, para provocar un efecto adecuado en la estimulación del desarrollo del cultivo. En el tipo de suelo utilizado y con la variedad empleada, la cepa R-3 muestra una clara superioridad, de ahí lo imprescindible de realizar experimentos similares cuando se requiera discriminar entre cepas y seleccionar solo las de mayores potencialidades.

Los indicadores evaluados, como componentes del rendimiento, tienen una repercusión directa en la producción del cultivo, el que igualmente mostró incrementos por el efecto de la inoculación de las cepas de *Mesorhizobium* (figura).

**Tabla II. Estudio de los parámetros fisiológicos de crecimiento y desarrollo del cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) variedad Nacional-29**

Variante	Altura planta	Diámetro del tallo (cm)	Peso total de la planta (g planta <sup>-1</sup> )	Peso seco nódulos (g planta <sup>-1</sup> )
INIFAT GR-1	60,19 c	0,70c	112,381 c	0,38 c
Cepa 1	67,80 b	0,75b	133,546 b	11,66 b
Cepa 3	71,18 a	0,77a	137,745 a	14,02 a
Testigo	50,62 d	0,52d	63,293 d	--
EsX	3,199	0,60	0,132	0,168
CV (%)	10,11	0,89	2,99	2,87

Letras iguales no difieren significativamente entre sí para  $\alpha=0,05$



Letras iguales no difieren significativamente entre sí para  $\alpha=0,05$   
 Esx: 4,3091; 69,8175; 112,58; 1,511, para cada indicador, respectivamente  
 CV (%): 5,27; 0,89; 0,87; 3,70, para cada indicador, respectivamente

**Comportamiento de indicadores productivos del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) con la variedad Nacional-29, inoculado con las cepas de *Mesorhizobium***

Es evidente la semejanza del comportamiento de las cepas R-1 y R-3, y la superioridad de ambas al compararla con la INIFAT GR-1, por lo que como resultado principal de este trabajo se seleccionan las mismas para sustituir a esta última en la biofertilización del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.), fundamentalmente para la variedad Nacional-29, debido a la respuesta significativamente superior con respecto al testigo (plantas sin aplicación de *Mesorhizobium*).

En trabajos posteriores sería conveniente valorar la posibilidad de elaborar un producto multicepas que permita un mayor efecto de acción del inoculante en los distintos agroecosistemas donde se siembra el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.), así como la posibilidad de combinar estos microorganismos con especies solubilizadoras de fósforo y plaguicidas químicos o biológicos en condiciones *in vivo*, para proponer un manejo integral del cultivo.

Teniendo en cuenta que la inoculación de leguminosas con rizobios se llevará a cabo por mucho tiempo, la mejor opción para el manejo de este grupo de cultivos, es el continuo desarrollo de los biofertilizantes cada vez más efectivos que deberá ser un trabajo permanente y de vital importancia para la agricultura mundial y en especial para Cuba.

## CONCLUSIONES

- ♦ Las cepas R-1 y R-3 pertenecen al género *Mesorhizobium*.
- ♦ Ambas cepas de *Mesorhizobium*, muestran potencialidades de uso para la agricultura, teniendo en cuenta que solubilizan fósforo, producen ácido indol acético en niveles superiores a la INIFAT GR-1 y, al igual que ella, son compatibles con microorganismos de interés agrícola y plaguicidas químicos.
- ♦ Las cepas R-1 y R-3 estimulan el rendimiento y la nodulación del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L) variedad Nacional-29, por lo que son promisorias para sustituir a la cepa INIFAT GR-1 en la biofertilización del mismo.
- ♦ Se destaca por su superioridad la cepa R-3 por mostrar incrementos en todos los indicadores evaluados.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Marschner, P.; Crowley, D. y Rengel, Z. "Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis – model and research methods". *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 43, no. 5, mayo de 2011, pp. 883-894, ISSN 0038-0717, DOI 10.1016/j.soilbio.2011.01.005.
2. Hayashi, M.; Saeki, Y.; Haga, M.; Harada, K.; Kouchi, H. y Umehara, Y. "*Rj* (*rj*) genes involved in nitrogen-fixing root nodule formation in soybean". *Breeding Science*, vol. 61, no. 5, 2012, pp. 544–553, ISSN 1347-3735, 1344-7610.
3. Bonaldi, K.; Gargani, D.; Prin, Y.; Fardoux, J.; Gully, D.; Nouwen, N.; Goormachtig, S. y Giraud, E. "Nodulation of *Aeschynomene afraaspera* and *A. indica* by Photosynthetic *Bradyrhizobium* Sp. Strain ORS285: The Nod-Dependent Versus the Nod-Independent Symbiotic Interaction". *Molecular Plant-Microbe Interactions*, vol. 24, no. 11, 13 de octubre de 2011, pp. 1359-1371, ISSN 0894-0282, DOI 10.1094/MPMI-04-11-0093.
4. Martínez, R. y Dibut, B. *Biofertilizantes Bacterianos*. edit. Científico-Técnica, La Habana, Cuba, 2012, 279 p., ISBN 978-959-05-0659-8.
5. Shagarodsky, T. M. L.; Chiang, M.; Cabrera, O.; Chaveco, M. R.; López, B.; Dibut, M.; Dueñas, M.; Vega, N. y García, E. *Manual de instrucciones técnicas para el garbanzo (Cicer arietinum L.) en las condiciones de Cuba*. edit. INIFAT, 2005, 20 p., ISBN 959-246-133-3.
6. Madigan, M.; Martinko, J.; Stahl, D. y Clark, D. *Brock Biology of Microorganisms*. 13.<sup>a</sup> ed., edit. Pearson, 2012, 1155 p., ISBN 978-0-321-73551-5.
7. "The genus *Bacillus*" [en línea]. En: eds. Brenner, D. J.; Krieg, N. R.; Staley J. T.; Garrity G. M.; Boone D. R.; De Vos, P.; Goodfellow, M.; Rainey, F. A.; y Schleifer, K.-H., *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*, edit. Springer US, Boston, MA, 2005, pp. 751-778, ISBN 978-0-387-24144-9, [Consultado: 25 de enero de 2016], Disponible en: <<http://link.springer.com/10.1007/0-387-28022-7>>.
8. Hernández, A.; Pérez, J.; Bosch, D. y Castro, N. *Clasificación de los suelos de Cuba 2015*. edit. Ediciones INCA, Mayabeque, Cuba, 2015, 93 p., ISBN 978-959-7023-77-7.
9. Cárdenas, T. R. M.; Ortiz, P. R.; Echevarría, H. A. y Shagarodsky, S. T. "Caracterización y selección agroproductiva de líneas de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) introducidas en Cuba". *Cultivos Tropicales*, vol. 33, no. 2, junio de 2012, pp. 69-74, ISSN 0258-5936.
10. Statistical Graphics Corp. *STATGRAPHICS® Plus* [en línea]. (ser. Profesional), versión 5.1, [Windows], 2000, Disponible en: <<http://www.statgraphics.com/statgraphics/statgraphics.nsf/pd/pdpricing>>.
11. Ribeiro, C. M. y Cardoso, E. J. B. N. "Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*)". *Microbiological Research*, vol. 167, no. 2, 20 de enero de 2012, pp. 69-78, ISSN 0944-5013, DOI 10.1016/j.micres.2011.03.003.
12. Camelo, M.; Vera, S. P. y Bonilla, R. "Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal". *Revista CORPOICA. Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, vol. 12, no. 2, 2011, pp. 159-166, ISSN 0122-8706.

13. Gerding, M.; O'Hara, G. W.; Bräu, L.; Nandasena, K. y Howieson, J. G. "Diverse *Mesorhizobium* spp. with unique *nodA* nodulating the South African legume species of the genus *Lessertia*". *Plant and Soil*, vol. 358, no. 1-2, 7 de marzo de 2012, pp. 385-401, ISSN 0032-079X, 1573-5036, DOI 10.1007/s11104-012-1153-3.
14. Afzal, A. y Bano, A. "Rhizobium and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*)". *International Journal of Agriculture and Biology*, vol. 10, 2008, pp. 85-88, ISSN 1814-9596, 1560-8530.
15. Ho, B.; Ho, T. K.; Ho, T. W.; Huang, E.-H.; Nutrimen, F. J. P.; Ho, B.; Ho, T. K.; Ho, T. W. y Huang, E.-H. *Microorganisms, microbial phosphate fertilizers and methods for preparing such microbial phosphate fertilizers* [en línea]. no. WO2009070966 A1, no. solc. PCT/CN2008/001850, 11 de junio de 2009, [Consultado: 25 de enero de 2016], Disponible en: <<http://www.google.com/patents/WO2009070966A1?cl=en>>.
16. Inaba, S.; Ikenishi, F.; Itakura, M.; Kikuchi, M.; Eda, S.; Chiba, N.; Katsuyama, C.; Suwa, Y.; Mitsui, H. y Minamisawa, K. "N<sub>2</sub>O Emission from Degraded Soybean Nodules Depends on Denitrification by *Bradyrhizobium japonicum* and Other Microbes in the Rhizosphere". *Microbes and Environments*, vol. 27, no. 4, 2012, pp. 470-476, ISSN 1347-4405, 1342-6311, DOI 10.1264/jsme2.ME12100.

Recibido: 15 de mayo de 2015

Aceptado: 18 de enero de 2016

## NÚMERO ESPECIAL

*Este número de la revista está dedicado  
al X Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal (BioVeg2015)*

---

### Nota:

Durante el proceso de edición no se pudo acceder al trabajo de retoque y mejoramiento de imágenes, por lo que estas han sido insertadas con la misma calidad con la que enviaron sus autores.

La Editorial



# TUTORIAL

## NÚMERO ESPECIAL

*Este número de la revista está dedicado  
al X Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal (BioVeg2015)*

*El Centro de Bioplantitas es una institución de investigaciones científicas, adscrita a la Universidad de Ciego de Ávila “Máximo Gómez Báez” del Ministerio de Educación Superior de Cuba. El mismo surge en 1987 como un laboratorio de investigaciones y micropropagación de plantas frutales. Desde 1992, tiene como misión desarrollar, aplicar y ofrecer tecnologías, productos, asistencia técnica y servicios académicos de excelencia en el marco de la Biotecnología Vegetal.*

*El grupo de investigadores, técnicos de laboratorio y otro personal auxiliar altamente calificados, han sido galardonados con premios relevantes de la Academia de las Ciencias de Cuba y con reconocimientos por la labor que realizan en la transferencia de resultados científicos y tecnológicos, la producción de vitroplantitas para el comercio internacional, y la educación postgraduada. Para el trabajo científico cuenta con seis laboratorios: Cultivo de Células y Tejidos Vegetales, Agrobiología, Interacción Planta-Patógeno, Ingeniería Metabólica, Mejoramiento Genético de Plantas y Computación Aplicada. Todos con las mejores facilidades y un equipamiento de alta calidad para asegurar resultados relevantes.*

*El Centro de Bioplantitas desde 1997 y, como bienal, desarrolla su Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal (BioVeg), el cual constituye un marco excepcional para el intercambio de conocimientos y experiencias entre científicos, docentes y productores. En este se debaten en forma de Conferencia Magistrales, Talleres y Mesas Redondas durante sesiones de trabajo, los resultados más relevantes y los problemas más acuciantes que enfrenta la biotecnología vegetal cubana y mundial.*

*Por todo lo anterior, el Comité Organizador de BioVeg2015 en su décima edición se complace en presentarles una muestra representativa de 19 trabajos científicos completos recibidos y siente profunda satisfacción en invitarlos para el próximo BioVeg2017 que se desarrollará en la fecha 22-26 del mes de mayo.*

---

### Nota:

Durante el proceso de edición no se pudo acceder al trabajo de retoque y mejoramiento de imágenes, por lo que estas han sido insertadas con la misma calidad con la que enviaron sus autores.

La Editorial