

Reseña bibliográfica

BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN EL CULTIVO DEL ARROZ (*Oryza sativa* L.). PERSPECTIVAS DE SU USO EN CUBA

Narovis Rives[✉], Yanelis Acebo y Annia Hernández

ABSTRACT. Rice is one of the most important food and work supplies worldwide, besides that it is highly consumed. As a sustainable agriculture strategy, crop yield increments have been encouraged through combining chemical fertilizers and biofertilizers adequately. In this sense, the application of microbial inoculants has been proved as an ecological alternative to preserve the environment and ecosystem. The Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) are among the main groups of microorganisms used with this purpose, due to their abilities of interacting with plants through different mechanisms of action, such as phytohormone production, biological nitrogen fixation and pathogen biocontrol. The aim of this work was to review the importance of employing PGPB, dealing with some relevant subjects, such as their isolation and identification methods, as well as their main mechanisms of action, showing their potential to be used in an essential crop like rice.

RESUMEN. El arroz es fuente de alimento y empleo para una gran parte de la población mundial, con alto promedio de consumo anual. Como parte de la estrategia de agricultura sostenible, se trata de lograr altos rendimientos del cultivo mediante una combinación adecuada de fertilizantes químicos y productos biológicos. En este sentido, la aplicación de inoculantes bacterianos ha constituido una alternativa ecológica, que favorece la conservación del medio ambiente y el ecosistema. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal se encuentran dentro de los principales grupos de microorganismos utilizados con este fin, las cuales al interactuar con las plantas lo hacen a través de diferentes mecanismos de acción, entre los que se destacan la producción de fitohormonas, la fijación biológica del nitrógeno y el biocontrol de patógenos. Este trabajo tiene como objetivo abordar la importancia de la utilización de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, tratando algunos temas relevantes, como son los géneros de interés agrícola, las metodologías de aislamiento e identificación, así como sus principales mecanismos de acción, mostrando sus potencialidades para ser empleadas en un cultivo tan importante como el arroz.

Key words: plant growth promoting rhizobacteria, inoculation, rice

Palabras clave: rizobacteria promotora del crecimiento vegetal, inoculación, arroz

EL CULTIVO DEL ARROZ Y SU IMPORTANCIA ECONÓMICA

El arroz es una planta monocotiledónea perteneciente a la familia de las gramíneas. Existen 19 especies, siendo el arroz común (*Oryza sativa* L.) la especie más importante para la alimentación humana. Su cultivo comenzó hace alrededor de 10,000 años, en muchas re-

giones húmedas de Asia tropical y subtropical. Se piensa que existieron varias rutas por las cuales se introdujeron los arroces de Asia a otras partes del mundo (1, 2).

El cultivo tiene lugar en una amplia gama de suelos, variando su textura desde arenosa a arcillosa. Se acostumbra a cultivar en suelos de textura fina y media, que son propios del proceso de sedimentación en las amplias llanuras inundadas y los deltas de los ríos. La textura del suelo desempeña un papel importante en el manejo del riego y los fertilizantes (3).

El arroz es el alimento básico para más de la mitad de la población mundial; se considera el más importante del mundo por la extensión de

la superficie en que se cultiva y la cantidad de personas que dependen de su cosecha. Constituye uno de los cereales más ampliamente cultivados en el mundo, con una producción promedio anual de aproximadamente 476 millones de toneladas métricas (1).

En Cuba, el arroz constituye una parte importante en la dieta diaria de la población, siendo el consumo per cápita actual uno de los más altos de América Latina con cerca de 60 kg, participando en el 20 % de las calorías diarias que consume la población. La población cubana está aproximadamente en los 11 millones de habitantes; teniendo en consideración el per cápita de consumo, se

Ms.C. Narovis Rives, Investigadora del Departamento de Protección de Plantas, Instituto de Investigaciones del Arroz, km 16 ½, autopista Novia del Mediodía, Bauta, La Habana; Yanelis Acebo, Especialista y Dr.C. Annia Hernández, Profesor Asistente del Departamento de Microbiología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba.

✉ narovis@fbio.uh.cu

necesitan alrededor de 700 mil toneladas de arroz para consumo. A partir de 1996, se ha desarrollado la producción de arroz no especializado (Arroz Popular), como una alternativa para aumentar la producción de arroz con menor costo (4).

Principales enfermedades que atacan al cultivo. En este cultivo, las enfermedades constituyen uno de los factores que inciden en la obtención de los rendimientos bajos, la calidad y el manchado de los granos. Estas son provocadas por diversos microorganismos, como los hongos, las bacterias y los virus. Existen numerosas enfermedades que afectan al cultivo del arroz en el mundo y que están extendidas, por lo general, en todos los países productores del cereal. Las enfermedades de origen fúngico son las más frecuentemente encontradas en este cultivo. Dentro de las principales enfermedades que causan los daños más severos en el arroz se encuentra la piriculariosis, añublo o quemazón, causada por el hongo *Pyricularia grisea* (Sacc.) y el añublo de la vaina, causada por el hongo *Rhizoctonia solani* (Khun) (5).

En nuestro país, en la década del 90, el cultivo del arroz sufrió el ataque del hongo *Sarocladium oryzae* (Sawada) causante de la pudrición de la vaina, asociado al ácaro *Stenotarsonemus spinki* en un complejo que causó severos daños a las plantaciones (6).

El manchado del grano también constituye un factor limitante de gran importancia, debido a la reducción que ocasiona tanto en el rendimiento como en la calidad del grano o semilla. En algunas áreas arroceras, las pérdidas económicas se han venido incrementando en los últimos años, siendo causantes de estas severas afectaciones los hongos (7), aunque también las especies bacterianas de los géneros *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Acidovorax* y *Burkholderia* han sido identificadas como patógenos de importancia económica en el cultivo (8).

Se conocen numerosos virus que afectan al arroz, como el de la hoja blanca y los virus RTSV y RTBV, que forman un complejo vírico, tras-

mitido por varias especies de homeópteros. El incremento de estas enfermedades se asocia al aumento de la población del vector. Entre los nematodos e insectos más abundantes en los arrozales están *Hirschmaniella oryzae*, *Meloidogne graminicola*, la rosquilla, los pulgones, las tijeretas del arrozal, el taladrador del arroz y los gusanos rojos y blancos del arrozal (9).

INTERACCIÓN PLANTA-MICROORGANISMOS. IMPORTANCIA EN LA AGRICULTURA

Las plantas constituyen excelentes hábitats microbianos. Las raíces se desarrollan en un medio cuya humedad es generalmente poco variable y las concentraciones de nutrientes son altas, por lo que constituyen un ambiente ideal para la acción microbiana (10).

Los exudados radicales, formados por azúcares, mucigel, ácidos orgánicos y aminoácidos, pueden conformar hasta un 40 % de los fotosintatos de la planta (11), lo cual cambia la composición del suelo en la vecindad de la raíz, creando un medio selectivo para la existencia de grandes poblaciones microbianas heterótrofas, que establecen diferentes interacciones con la planta, tanto positivas (promotoras del crecimiento vegetal), negativas (patogénicas) como neutrales (12).

Debido al impacto negativo sobre el medio ambiente y al alto precio en el mercado internacional que tienen los fertilizantes y pesticidas químicos, los agricultores del mundo entero, especialmente los de países subdesarrollados, se interesan cada día más por la biofertilización de los cultivos, con el fin de mejorar el rendimiento (13, 14). En este sentido, las bacterias rizosféricas y endófitas sobresalen como una solución a los problemas ambientales causados por la agricultura intensiva tradicional.

BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPB)

Los microorganismos promotores del crecimiento vegetal desempeñan un papel clave en la toma de nutrientes, la tolerancia a estrés ambiental y, en general, el mantenimiento de la salud radicular, favoreciendo así el aumento del rendimiento de los cultivos (15).

A este grupo pertenecen las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, definidas por Kloepper (16). Estas bacterias están asociadas a muchas de las especies de plantas que están presentes en la mayoría de los ambientes (17) y se encuentran ampliamente representadas en cuanto a géneros microbianos, pudiendo aumentar la disponibilidad de nutrientes, transformarlos a formas asimilables por la planta, producir sustancias promotoras del crecimiento (fitohormonas) o servir como control biológico de fitopatógenos, denominándose entonces biocontrol PGPB (18).

Diversos géneros bacterianos se han aislado de las plantas y el suelo rizosférico de arroz y se han hecho estudios al respecto. Dentro de los principales géneros que se han visto asociados a la rizosfera del arroz se encuentran *Azospirillum* (19), *Herbaspirillum* (20, 21), *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Azotobacter* y *Bacillus* (22).

Como describieron Kloepper *et al.* (23) y más recientemente Gray y Smith (24), las bacterias promotoras del crecimiento vegetal pueden también penetrar al interior de las raíces y establecerse como poblaciones endófitas. Muchas de ellas tienen la capacidad de trascender las barreras de la endodermis, atravesar la corteza de la raíz hasta el sistema vascular y, como consecuencia, vivir como endófitos en tallos, hojas, tubérculos y otros órganos (17) sin causar perjuicio a la planta. Más específicamente, sus rutas de acceso son radicales, raíces secundarias, estomas o alguna herida en la planta, ya que pueden vivir intracelularmente, en los espacios

intercelulares o en el sistema vascular (5). La población total de endófitos puede variar debido a factores tales como la edad del vegetal, las condiciones ambientales y el tipo de tejidos (5, 20). Se ha considerado que las bacterias endófitas podrían tener algunas ventajas competitivas sobre las rizosféricas, ya que la disponibilidad de nutrientes es mayor en el interior de las plantas y el número de microorganismos endófitos es menor que el de los rizosféricos (25). Además, las bacterias endófitas se encuentran mejor protegidas que las rizosféricas de las condiciones adversas que se presentan en el medio ambiente (26).

Principales métodos de aislamiento y caracterización. El mayor reto al seleccionar una bacteria promotora del crecimiento vegetal para la producción de un biopreparado o un biofertilizante, es asegurar la identificación de los microorganismos de mayor utilidad en la agricultura, considerando aspectos tan variables como el tipo de suelo, la planta hospedera y las condiciones climáticas (11).

Para el aislamiento de rizobacterias existen diferentes métodos en estrecha relación con los hábitats más frecuentes. Los lugares más factibles son: el suelo rizosférico, la superficie y los tejidos de la raíz. Entre las técnicas más utilizadas en la actualidad se encuentran los métodos convencionales (aislamiento directamente del suelo o la raíz) (27), el modelo de Tubos Espermosféricos (28) y el modelo Microcosmos (29).

Para el aislamiento de los microorganismos endófitos, las plantas se lavan con agua corriente y se lleva a cabo la desinfección del material vegetal, con vistas a descartar la presencia de microorganismos rizosféricos y otros que se encuentran en la superficie del tejido (17). Los métodos más difundidos para el aislamiento de endófitos son: trituración (30), vacío y extracción a presión (31) y centrifugación (32).

Debido al surgimiento y aplicación de nuevos inoculantes microbianos, crece la necesidad de identificar y ras-

trear los microorganismos presentes en la rizosfera y en el interior de la planta, con el fin de evitar interacciones perjudiciales entre el inóculo y la microbiota indígena, así como comprobar la capacidad de colonización del microorganismo inoculado y su distribución dentro del vegetal (33). Es por ello que se busca una total identificación de las cepas microbianas en estudio, utilizando técnicas clásicas y de avanzada.

Las características fenotípicas pueden ofrecer una visión detallada de la variación de las bacterias dentro de una especie o entre diferentes especies, permitiendo reconocer también los rasgos característicos de cada especie (34). Sin embargo, las técnicas de identificación convencionales no permiten evidenciar la localización exacta del microorganismo, solo se puede saber que es endófito o de vida libre y requiere de un gasto importante de medios de cultivo y tiempo, para hacer la caracterización fisiológica y poder concluir la identificación. Además, la extracción de los microorganismos requiere de métodos extremadamente cuidadosos (35). Los estudios se hacen *ex vivo*, por lo que las muestras tomadas no siempre son las más representativas (33).

No obstante, estas técnicas no se pueden subestimar, ya que la caracterización fenotípica además de delinear los taxa permite evaluar las funciones ecológicas y fisiológicas de las bacterias (36, 37, 38), sino que deben complementarse con la tecnología de punta.

Las técnicas moleculares tienen como ventaja que los estudios se pueden hacer *in vivo*, lo que permite hacer un seguimiento del inóculo microbiano en la misma planta. En la actualidad se emplean diferentes técnicas moleculares con mayor o menor eficacia, dentro de las que se encuentran las inmunológicas (38), la tecnología del ADN recombinante (39) y el empleo de sondas marcadas (40).

Dentro del grupo de las técnicas inmunológicas se incluyen todas aquellas que involucran la reacción de afinidad antígeno-anticuerpo, entre las que se pueden citar la agluti-

nación, inmunofluorescencia, inmunoprecipitación y ELISA (41).

En los últimos años, se ha demostrado la importancia de utilizar la taxonomía polifásica en la identificación de los microorganismos, que no es más que la combinación de métodos convencionales y de biología molecular, para la caracterización fenotípica y genotípica de un microorganismo. En este sentido, Roumagnac *et al.* (42) realizaron la caracterización polifásica de especies del género *Xanthomonas* aisladas de cebolla, lo que les permitió identificar al agente causal de la enfermedad tizón bacteriano de la cebolla como un patovar de *Xanthomonas axonopodis*.

En este contexto, una metodología que permite la detección, identificación y rápida evaluación de bacterias promotoras del crecimiento, incluyendo la caracterización de los géneros microbianos asociados al cultivo, ha sido descrita por Hernández *et al.* (43). Esta metodología incluye un nuevo procedimiento a seguir, para el diagnóstico y la identificación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, con lo cual se pretende, una vez obtenidos los aislados, realizar una prueba inmunológica rápida. Cuando se trata de un diagnóstico de rutina, se recomienda que una vez aplicada esta técnica, se seleccione de forma aleatoria un 5 % de las muestras, para aplicar algunas de las técnicas convencionales confirmatorias que corroboren los resultados obtenidos mediante la prueba inmunológica. Para la identificación de cepas, se recomienda desarrollar además las técnicas convencionales y de biología molecular, que requieren de mayor cantidad de tiempo y son más costosas, pero son imprescindibles para la caracterización fenotípica y genotípica de un microorganismo y constituyen la base de la taxonomía polifásica.

Mecanismos de acción. Las PGPB pueden promover el crecimiento por vía directa o indirecta, cuyos elementos específicos no han sido debidamente caracterizados. Los efectos

directos pueden evidenciarse en ausencia de otros microorganismos (es decir, la planta solo interactúa con el microorganismo en estudio), mientras que los mecanismos indirectos se pueden observar en la interacción del microorganismo de interés con un fitopatógeno, mediante la que se reducen los efectos dañinos en el vegetal (44).

Los efectos directos de las PGPB son: la síntesis de fitohormonas, la producción de sideróforos, la solubilización de minerales (45, 46) y la fijación del nitrógeno atmosférico (47). Se ha observado además su influencia en la absorción de elementos minerales, debido a incrementos en los flujos iónicos de la superficie radicular en presencia de PGPB (11).

Los mecanismos de biocontrol ampliamente reconocidos, mediados por PGPB, son la competencia por un nicho ecológico o sustrato, la síntesis de compuestos químicos inhibitorios como los sideróforos, los antibióticos, las enzimas líticas y detoxificadoras (48), así como la inducción de resistencia sistémica en la planta (15, 49).

➤ *Producción de fitohormonas*

Las fitohormonas controlan muchos aspectos relacionados con el crecimiento y desarrollo de las plantas (50). La producción de fitohormonas por PGPB es uno de los factores responsables de la promoción del crecimiento vegetal (45), al aumentar tanto el número y tamaño de los pelos radiculares como el peso de la raíz, propiciando un aumento en la toma de nutrientes y agua por la planta (11, 21).

Muchas PGPB producen auxinas, citoquininas, giberelinas, octadecanoides y compuestos que imitan la acción del jasmonato (46, 51). El fenómeno de la fitoestimulación está dado particularmente por la manipulación de la compleja y balanceada red de hormonas de plantas o compuestos similares que influyen directamente en el crecimiento o estimulan la formación de raíces. Por ejemplo, muchas especies de *Azospirillum* producen auxinas, citoquininas y giberelinas, que esti-

mulan el desarrollo de las raíces, lo que provoca incrementos en los rendimientos agrícolas (51).

El mecanismo analizado con mayor amplitud es la producción de auxinas, especialmente la del ácido 3-indolacético (AIA), aunque se han encontrado otros compuestos indólicos y metabolitos relacionados, tales como el ácido indol pirúvico, ácido indol láctico, ácido indol acetamida, ácido indol acetaldehído y otros compuestos no indólicos no identificados, que han sido menos estudiados (52).

La síntesis de AIA ocurre por varias vías, incluso se ha propuesto más de una ruta metabólica en algunas especies (53). El triptófano es considerado el precursor del AIA, ya que cuando se añade a los cultivos bacterianos aumenta su producción; por esto, las vías de síntesis dependientes de triptófano son las más estudiadas. Dentro de estas se encuentran: la vía ácido indol-3-pirúvico, la vía indol-3-acetamida y la vía indol-3-acetonitrilo; además, se ha observado la conversión directa en *Pseudomonas fluorescens* de triptófano en indol-3-acetaldehído, que se convierte posteriormente en AIA (54).

La detección y cuantificación de compuestos indólicos, especialmente el AIA, se ha estudiado mediante técnicas muy variadas, entre las que se encuentran los ensayos inmunológicos de detección y los métodos colorimétricos de cuantificación (19, 55).

➤ *Competencia por el hierro y la producción de sideróforos*

Se ha observado que las rizobacterias tienen la capacidad de sintetizar y excretar compuestos del tipo sideróforos al medio en condiciones de escasez de hierro (56). Una vez secuestrado el hierro por los sideróforos, el complejo es reconocido por receptores específicos de membrana, atravesándola por un sistema de transportadores activos. En el interior celular, el metal se deposita en un sitio específico, por un proceso que involucra un intercambio de ligandos, que puede estar precedido o no por la reducción del hierro III o por la hidrólisis del sideróforo (57).

Existe una hipótesis que explica el papel de los sideróforos en el biocontrol de patógenos. Plantea que las rizobacterias suprimen la enfermedad, convirtiendo al hierro III en un factor limitante mediante el secuestro de este, inhibiendo de este modo el crecimiento de patógenos en la rizosfera (58). Cuando el sideróforo se acopla con el hierro, este último se hace inaccesible para los microorganismos patógenos que no posean los receptores proteicos específicos para reconocer al complejo y que, además, no tengan mecanismos propios tan efectivos de adquisición de hierro (57).

Existen diferentes clases de sideróforos con grandes diferencias en cuanto a estructura (hidroxamatos y catecoles), por lo que no existe un procedimiento homogéneo para su purificación. Su solubilidad en agua es utilizada para eliminar impurezas mediante su dilución en solventes orgánicos. La utilización de columnas de resinas de intercambiadores iónicos han dado muy buenos resultados en la purificación de estos compuestos (59). Los sideróforos pueden ser aislados puros o acoplados con hierro, pero es necesaria una hidrólisis fuerte para eliminar el hierro quelado y así poder caracterizar la molécula debidamente. En la caracterización estructural puede utilizarse una o varias técnicas acopladas, como pueden ser NMR, espectroscopía de masas e incluso difracción de rayos X para los sideróforos cristalizables (60).

La producción de sideróforos puede ser detectada por diversos métodos, como pueden ser el CAS (Cromo Azuroil S), desarrollado por Schwyn y Neillands (61); el ensayo de Arnou para la detección de catecoles y el ensayo de Atkin para la detección de hidroxamatos (62). El ensayo CAS se basa en la gran capacidad que tienen los sideróforos de secuestrar el hierro, en este caso, acoplado débilmente con un agente colorante, que permite observar la producción de sideróforos a simple vista. Los otros dos métodos mencionados son colorimétricos y

necesitan un tiempo de incubación determinado, así como de la lectura en un espectrofotómetro para la cuantificación. Existen otros métodos para la clasificación rápida de sideróforos, como la IEF (*Isoelectric Focusing*) (63).

➤ Antibiosis

La antibiosis se caracteriza por la inhibición o destrucción de un microorganismo por los productos metabólicos de otros, que incluyen antibióticos, enzimas líticas y enzimas detoxificadoras (64).

Se ha planteado que la capacidad de las cepas de *Pseudomonas* spp. de suprimir el desarrollo de patógenos en la rizosfera depende, en gran medida, de su habilidad para producir metabolitos de naturaleza antibiótica, tales como pyoluteorina, pyrrolnitrina, fenacina-1-ácido carbóxico y 2.4 diacetyl-phloroglucinol (65). Berg *et al.* (34) aislaron nuevas cepas de rizobacterias con potencial de biocontrol (capacidad de producir el 2.4 diacetyl-phloroglucinol, entre otros metabolitos) y se ha demostrado que *Pseudomonas fluorescens* cepa CHAO produce varios antibióticos, entre los cuales se encuentra la pyoluteorina y el 2.4 diacetyl-phloroglucinol, además de ácido cianhídrico y ácido salicílico (66). El 2.4 diacetyl-phloroglucinol unido al ácido cianhídrico desempeñan un importante papel en el control de enfermedades en trigo (67).

Resultados de Bevivino *et al.* (68) mostraron que la inoculación de la cepa de *Burkholderia cepacia* MC17 al cultivo del maíz, en suelos infectados y no infectados con *Fusarium moniliforme* Sheld, provocó incrementos en el crecimiento vegetal en ambas condiciones de suelo y el control del 100 % del hongo fitopatógeno.

Recientemente, se ha expresado que un nuevo modo de promover el crecimiento e inducir resistencia en plantas, está basado en la producción de compuestos volátiles presentes en el aire, que son liberados por ciertos microorganismos. Además, se ha demostrado la capaci-

dad de ciertas PGPB para inactivar autoinductores patogénicos responsables de la activación de genes de virulencia (17, 69).

Mediante el uso de técnicas de mutagénesis, se ha llegado a explicar la importancia de los antibióticos en la supresión de enfermedades producidas por patógenos que atacan a las plantas (68). Los resultados de la aplicación de técnicas moleculares y el aislamiento directo han demostrado que estos antibióticos se producen en la rizosfera de las plantas, desempeñando un importante papel en la supresión de patógenos (70).

GÉNEROS MICROBIANOS DE INTERÉS AGRÍCOLA

Se han descrito diversos géneros que tienen la capacidad de fijar nitrógeno y producir compuestos promotores del crecimiento vegetal, entre los que se destacan: *Beijerinckia*, *Derxia*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Rhodopseudomonas*, *Azospirillum*, *Acetobacter*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum* (71). Al mismo tiempo, géneros tales como *Pseudomonas* y *Burkholderia* tienen la capacidad de excretar metabolitos secundarios de gran efectividad en el biocontrol, como antibióticos y sideróforos (38).

En el arroz, se ha demostrado que *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Herbaspirillum* son fuertemente atraídos por los exudados radicales del cultivo. Diferentes estudios indican que los géneros *Azospirillum* y *Herbaspirillum* se destacan por una alta frecuencia de aparición, informándose como géneros dominantes en algunas variedades estudiadas en diferentes localidades edáficas (2, 72). Estas bacterias colonizan naturalmente campos del cultivo y podrían resultar potencialmente eficientes como inoculantes microbianos, que permitan promover el crecimiento de las plantas, en particular durante las fases iniciales del crecimiento y los rendimientos.

El género *Azospirillum* pertenece a la subclase alfa de las

proteobacterias, siendo *A. lipoferum* la especie tipo (52). En un inicio, se atribuyó el efecto promotor del crecimiento vegetal de este género, a la fijación de N₂ atmosférico (73), pero estudios posteriores demostraron que la contribución en este sentido es menos significativa que los cambios morfológicos y fisiológicos provocados en las raíces inoculadas, que promovían un aumento en la toma de agua y minerales (74). Luego de inocular con bacterias de este género, se observó un aumento en el número de raíces laterales y pelos radicales, lo cual aumenta la superficie de intercambio de la raíz con el suelo circundante (5, 75). Estos resultados son coincidentes con los de Amir *et al.* (76), que llevaron a cabo un estudio de la inoculación de *Azospirillum brasilense* Sp7 en plántulas de palmeras aceiteras, atribuyendo el efecto promotor del crecimiento a la producción de fitohormonas del tipo AIA.

La asociación de *Azospirillum* con las raíces de las plantas se desarrolla en dos etapas completamente independientes. La primera consiste en una adhesión rápida, débil y reversible, y la segunda fase ocurre mediante un anclaje lento, firme e irreversible, que alcanza su máximo nivel 16 horas después de la inoculación, el cual parece ser dependiente de un polisacárido extracelular (77).

El género *Herbaspirillum* se descubrió por primera vez con una sola especie, *Herbaspirillum seropedicae*, que incluye cepas asociadas a las raíces de diversos cereales (78). A excepción de *Herbaspirillum* species 3, todas las especies de este género son diazótroficas, capaces de establecer asociaciones muy cercanas con las plantas, predominantemente de la familia *Gramineae* (20, 73). En especial, *Herbaspirillum seropedicae*, que es diazótrofica, asociativa y endófitica (79), encontrada en el interior de varios cultivos de interés agrícola, tales como maíz, trigo, arroz (20), sorgo (80), caña de azúcar y plátano (75).

Las bacterias de este género pueden aparecer como endófitos en el

espacio apoplástico de las hojas (20) o intracelulares (80, 81). Además de la fijación de nitrógeno, se ha informado la producción de fitohormonas, como el AIA y las giberelinas en bacterias de este género, lo que constituye otro mecanismo de promoción del crecimiento vegetal (21, 27).

TENDENCIAS ACTUALES PARA EL EMPLEO DE INOCULANTES BACTERIANOS EN BENEFICIO DEL CULTIVO DEL ARROZ

En los últimos años, se han llevado a cabo numerosos estudios de campo en diferentes países, a fin de evaluar la respuesta de diversas plantas a la inoculación con bacterias del género *Azospirillum* (19, 82, 83). Los resultados arribaron a la conclusión de que la inoculación de *Azospirillum* sp. resulta beneficiosa, ya que aumenta el rendimiento vegetal de 5-30 % en aproximadamente el 60-70 % de los experimentos, teniendo en cuenta las características del suelo inoculado como información complementaria (19).

Actualmente, están disponibles comercialmente en Europa (Lipha, Francia) los inoculantes elaborados a partir de bacterias del género *Azospirillum* (especie: *Azospirillum lipoferum*) y se han obtenido buenos resultados en los experimentos de campo, disminuyendo la utilización de fertilizantes nitrogenados (83).

En nuestro país, las investigaciones con este género microbiano han resultado en la producción de un biofertilizante con registro de marca AzoFert®, obtenido en los laboratorios del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), utilizando la turba como soporte para las bacterias. Esta experiencia es utilizada también en el Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA) con un inoculante formado por otra cepa de *Azospirillum* (84). Además, el inoculante líquido se emplea en la aspersión de los suelos de cultivo y deshidratado o en polvo humedecido como cubierta en

las semillas de los cultivos que lo permitan (arroz, maíz y tomate) con muy buenos resultados (33).

Por otro lado, la aplicación de bacterias del género *Herbaspirillum* en los cultivos de arroz y otros cereales, ha permitido un aumento significativo en el rendimiento, hecho que se ha explicado teniendo en cuenta la fijación biológica de nitrógeno que lleva a cabo este microorganismo. Además, se ha informado la colonización preferencial de algunas especies de arroz, similar al mutualismo encontrado entre el género microbiano *Rhizobium* y las leguminosas (70).

Baldani *et al.* (78) encontraron que las bacterias pertenecientes al género *Herbaspirillum* pueden fijar de un 31 a un 54 % del nitrógeno necesario para una planta de arroz. En un estudio en condiciones de invernadero, la inoculación con este género en arroz aumentó el rendimiento significativamente (85). La inoculación en condiciones de campo de *H. seropedicae* en arroz aumentó el largo de las raíces y los retoños así como el rendimiento y peso del grano (86).

La bibliografía consultada coincide en que el aumento significativo en la fijación de nitrógeno en arroz, se produce cuando se añade una fuente de carbono exógena al sistema radical de la planta (39, 87). Sin embargo, la fijación de nitrógeno llevada a cabo por cepas de los géneros *Azospirillum* y *Herbaspirillum* no puede sustituir completamente los fertilizantes químicos nitrogenados (88), por lo que se indica realizar combinaciones adecuadas con otras alternativas o pequeñas dosis de fertilizantes químicos.

Perspectivas. Teniendo en cuenta la revisión y el análisis de la literatura realizado hasta el momento, reflexionamos acerca del uso indiscriminado de productos químicos sintéticos, que han causado efectos nocivos a lo largo de varios años, con el afán de incrementar las producciones agrícolas y controlar patógenos asociados a los cultivos.

Es necesario continuar desarrollando estudios con alternativas de

origen natural, que puedan emplearse en beneficio del cultivo del arroz y para controlar las enfermedades, sin causar riesgos a su entorno. Las PGPB tienen gran potencial de empleo y se ha comprobado que el uso de productos a partir de ellas ha sido eficiente en varios cultivos de interés económico. Sin embargo, se debe destacar la importancia de trabajar con cepas autóctonas, lo que aumentaría su factibilidad ecológica y permitiría una mayor efectividad, al verse favorecidas en la competencia microbiana y poder colonizar rápido y eficientemente la raíz.

En relación con sus mecanismos de acción, se deben abordar estudios básicos a nivel bioquímico y molecular, que contribuyan a dilucidar efectos tales como la fijación biológica del nitrógeno, la producción de fitohormonas y el control biológico de patógenos, con el objeto de mejorar la efectividad de las cepas. Este último mecanismo ha sido poco estudiado para los géneros señalados, sin embargo, se han demostrado las potencialidades del género *Azospirillum* como antagonista de patógenos, que atacan a los cultivos del arroz, frijol y tomate (2, 89).

Es importante que los estudios a desarrollar tengan un enfoque multidisciplinario, pues diferentes especialistas deben unir sus esfuerzos y aportar al conocimiento de los procesos de competencia de su área de estudio, para abordar aspectos básicos que pueden ocurrir en condiciones de laboratorio con los microorganismos estudiados, la interacción química con los compuestos empleados y, finalmente, el trabajo fundamental que desempeñan los agrónomos al aplicar los productos a las plantas y determinar su factibilidad biológica y económica.

De modo general, se debe tener en cuenta la importancia de aplicar productos biológicos en la agricultura en beneficio del cultivo de arroz, sin dañar al medio ambiente y la salud humana, aspectos fundamentales en el desarrollo de la agricultura sostenible (90).

CONCLUSIONES

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal poseen potencialidades para ser empleadas como biofertilizantes en beneficio de diferentes cultivos de interés agrícola. La utilización de cepas nativas podría ser una alternativa viable al uso indiscriminado de químicos en el cultivo del arroz. El conocimiento de las metodologías para su aislamiento e identificación, así como los principales mecanismos de acción que pueden beneficiar a la planta, permitirá un mejor manejo de estos microorganismos y de su interacción con el cultivo del arroz.

REFERENCIAS

1. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). FAO production yearbook. Roma, Italia, 2004.
2. Rives, N. Caracterización de géneros bacterianos rizosféricos y endófitos en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). [Tesis de Maestría]; Facultad de Biología. Universidad de la Habana, 2006.
3. Zhu, Y.; Chen, H.; Fan, J.; Wang, Y.; Li, Y.; Chen, J.; Fan, J.; Yang, S.; Hu, L.; Leung, H.; Mew, T. W.; Teng, O. S.; Wang, Z. y Mundt, C. C. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature*, 2000, vol. 406, p. 718-722.
4. Amador, M. M. Proyección de la producción arrocería en Cuba. En: Congreso Internacional del Arroz (3:2005), 2005.
5. Zinniel, D. K.; Lambrecht, P.; Harris, N. B.; Feng, Z.; Kuczmarzski, D.; Higley, P.; Ishimaru, C. A.; Arunakumari, A.; Barletta, R. G. y Vidaver, A. K. Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, vol. 68, no. 5, p. 2198-2208.
6. Zamora, N.; Álvarez, E. y Jiménez, M. Resultados preliminares de la dinámica poblacional del ácaro *Steneotarsonemus spinki*. *R. Elec. Granma Ciencia*, 2003, vol. 7, no. 1.
7. Mazzanti de Castañón, M. A. y Gutiérrez de Arbola, S. A. Hongos asociados a granos manchados del arroz. Cátedra de Fitopatología. Facultad de Ciencias Agrarias. UNNE, 2003.
8. Hatel, M. y Guimaraes, E. P. International partnership for rice improvement in Latin America: CIRAD, a case study. *Brazilian society of plant Breeding. Crop Breeding and Applied Bulletin*, 2002, vol. 165, no. 2, p. 639-648.
9. Malagutti, G. Enfermedades del maíz en Venezuela. Instituto de Protección y Sanidad Vegetal, 2000.
10. González, O. Interacciones de *Gluconacetobacter diazotrophicus* y las cepas bacterianas endófitas de la caña de azúcar. [Tesis de diploma]; Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 2002. 69 h.
11. Nelson, L. M. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Prospects for new inoculants. Online. Crop Management, Plant Management Network, 2004.
12. Whipps, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 2001, vol. 52, p. 487-511.
13. Postma, J.; Montanari, M. y van den Boogert, P. H. J. F. Microbial enrichment to enhance the disease suppressive activity of compost. *Eur. J. Soil Biol.*, 2003, vol. 39, p. 157-163.
14. Welbaum, G.; Sturz, A. V.; Dong, Z. y Nowak, J. Fertilizing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 2004, vol. 23, p. 175-193.
15. Matiru, V. N. y Dakora, F. Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. *African Journal of Biotechnology*, 2004, vol. 3, p. 1-7.
16. Kloepper, J. W. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. *Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management*. F. B. Metting, Jr., ed. Marcel Dekker Inc., New York, 1993. 274 p.
17. Compant, S.; Reiter, B.; Sessitsch, A.; Nowak, J.; Clément, C., y Ait Barka, E. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by a plant growth-promoting bacterium, *Burkholderia* sp. Strain PsJN. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, vol. 71, p. 1685-1693.
18. Bashan, Y. y Holguin, G. Proposal for the division of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria into two classification: biocontrol-PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria) and PGPB. *Soil Biol. Biochem.*, 1998, vol. 30, no. 8-9, p. 1225-1228.
19. Thakuria, D.; Talukdar, N. C.; Goswami, C.; Hazarika, S.; Boro, R. C. y Khan, M. R. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. *Current Science*, 2004, vol. 86, no. 7, p. 978-985.
20. Elbeltagy, A.; Nishioka, K.; Sato, T.; Suzuki, H.; Ye, B.; Hamada, T.; Isawa, T.; Mitsui, H.; Minamisawa, K. Endophytic colonization and in plant nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. isolated from wild rice species. *Appl Environ Microbiol.*, 2001, vol. 67, p. 5285-5293.
21. Radwan, T.; Mohamed, Z. K. y Reis, V. M. Efeito da inoculacao de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na producao de compostos indolicos em plantas de milho e arroz. *Pesq. Agropec. Bras. Brasilia*, 2004, vol. 39, no. 10, p. 987-994.
22. Hernández, A.; Rives, N. y Heydrich, M. Caracterización de la comunidad microbiana y endófitas asociada al cultivo del arroz variedad J-104. En: Congreso Científico del INCA (14:2004, nov 9-12, La Habana). Memorias [CD-ROM]. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas.
23. Kloepper, J. W.; Lifshitz, R. y Zablutowicz, R. M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.*, 1999, vol. 7, p. 39-44.
24. Gray, E. J. y Smith, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.*, 2005, vol. 37, p. 395-412.
25. James, E. K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. *Field Crop Research*, 1997, vol. 65, p. 197-209.

26. Reinold-Hurek, B. y Hurek, T. Life in grasses: diazotrophic endophytes. *Trends Microbiol.*, 1990, vol. 6, p. 139-144.
27. Bashan, Y.; Holguín, G. y Ferrera-Cerrato, R. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. *Terra*, 1996, vol. 14, no. 2, p. 159-192.
28. Thomas-Bauzon, D.; Weinhard, P.; Villecourt, P. y Balandreau, J. The spermosphere model and its use in growing, counting and isolating N fixing bacteria from the rizosphere of rice. *Canadian Journal of Microbiology*, 1982, vol. 28, p. 922-928.
29. Kabir, M.; Faure, D.; Heulin, T.; Achoawk, W. y Bally, R. Oligonucleotide probes based on 16S rRNA sequences for the identification of four *Azospirillum* species. *Can. J. Microbiol.*, 1995, vol. 41, p. 1081-1087.
30. Makhaffee, W. F. y Kloepper, J. W. Microbial changes in the bacterial communities of soil, rizosphere, and endorhiza. *Microb. Ecol.*, 1997.
31. Bell, C. R.; Dickie, G. A.; Harvey, W. L. G. y Chan, J. W. Y. Endophytic bacteria in grapevine. *Can. J. Microbiol.*, 1995, p. 46-53.
32. Dong, Z.; J. Canny, M. E.; Reboledo, M. R.; Fernández, C.; Ortega, E. y Rodés, R. A nitrogen-fixing endophytic of sugarcane stems: A new role for the appoplast. *Plant Physiol.*, 1994, vol. 105, p. 1139-1147.
33. Acebo, Y. y Hernández, A. Las técnicas moleculares para la identificación de bacterias de importancia agrícola, su contribución en la conservación del medio ambiente. Contribución a la Educación y la Protección del Medio Ambiente. vol. 4. ISCTN. Soporte magnético: 34B-41B, 2004.
34. Berg, G.; Krechel, A.; Ditz, M.; Sikora, R. A.; Ulrich, A. y Hallmann, J. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, vol. 51, p. 215-229.
35. Barraquío, W. L.; Revilla, L. y Ladha, J. K. Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice. *Plant and Soil*, 1997, vol. 194, no. 2-3, p. 15-24.
36. Vandamme, P.; Pot, B.; Gillis, M.; Vos, P. de, Kersters, K. y Swings, J. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.*, 1996, vol. 60, p. 407-438.
37. Rojas, M. M.; Rodríguez, A.; Manzano, J.; Martínez, J. y Heydrich, M. Caracterización fisiológica de bacterias endófitas de caña de azúcar. Contribución a la Educación y la Protección del Medio Ambiente. 2002, vol. 3.
38. Hernández, A.; Medina, A.; Quiñones, M.; Hofte, M.; Heydrich, M. y Hernández, A. N. Strain identification of *Burkholderia cepacia* and *Pseudomonas fluorescens* associated to maize crop by polyphasic taxonomy. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 2004, vol. 22, no. 2.
39. Chelius, M. K. y Triplett, E. W. Immunolocalization of Dinitrogenase Reductase Produced by *Klebsiella pneumoniae* in Association with *Zea mays* L. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, vol. 66, no. 2, p. 783-787.
40. Soares-Ramos, J. R. L.; Ramos, H. J. O.; Cruz, L. M.; Chubatsu, L. S.; Pedrosa, F. O.; Rigo, L. U. y Souza, E. M. Comparative molecular analysis of *Herbaspirillum* strains by RAPD, RFLP, and 16S rDNA sequencing. *Genet. Mol. Biol.*, 2003, vol. 26, no. 4.
41. Pico, M. C.; Giraldivo, I. G. y Otero, A. Inmunología experimental. La Habana : Editorial Félix Varela, 1997. 299 p.
42. Roumagnac, P.; Gagnevin, L.; Gardan, L.; Sutra, L.; Manceau, C.; Dickstein, E. R.; Jones, B.; Rott, P. y Pruvost, O. Polyphasic characterization of xanthomonads isolated from onion, garlic and Welsh onion (*Allium* spp.) and their relatedness to different *Xanthomonas* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, vol. 54, p. 15-24.
43. Hernández, A.; Manzano, J.; Jaziri, M. El; Diallo, B. y Heydrich, M. Determinación de la factibilidad biológica del biopreparado RIZOBAC® en el cultivo del arroz (*Oryza sativa*) [CD-ROM]. En: Memorias III Encuentro Internacional del Arroz, (3:2005 jun. 6-10:La Habana), 2005.
44. Thrane, C.; Harder-Nielsen, T.; Neidam-Nielsen, M. y Sørensen, J. Viscosinamide-producing *Pseudomonas fluorescens* DR54 exerts a biocontrol effect on *Pythium ultimum* in sugar beet rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, vol. 33, p. 139-146.
45. Torres-Rubio, M. G.; Valencia-Plata, S. A.; Bernal-Castillo, J. y Martínez-Nieto, P. Isolation of Enterobacteria, *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp. Producers of Indole-3-Acetic Acid and Siderophores from Colombian Rice Rhizosphere. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 2000, vol. 42, p. 171-176.
46. Yanni, Y. G. /et al./ The beneficial plant growth-promoting association of *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii with rice roots. *Aust. J. Plant Physiol.*, 2001, vol. 28, p. 845-870.
47. Malik, K. A.; Rakhshanda, B.; Mehnaz, S.; Rasul, G. y Mirza, M. S. Association of nitrogen-fixing plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with kallar grass and rice. *Plant Soil*, 1997, vol. 194, p. 37-44.
48. Bais, H. P.; Park, S. W.; Weir, T. L.; Callaway, R. M. y Vivanco, J. M. How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science*, 2004, vol. 9, p. 26-32.
49. Ryu, C. M. /et al./ Bacterial volatiles induce systemic resistance in Arabidopsis. *Plant Physiol.*, 2004, vol. 134, p. 1017-1026.
50. Bakul, R. D.; Tory, C.; Shin, T.; Seiji, T.; Kai, X.; Akio, M.; Hirohiko, H. y Masahiko, I. Defects in root development and gravity response in the *aem1* mutant of rice are associated with reduced auxin efflux. *Journal of Plant Physiology*. 2005.
51. Steenhoudt, O. y Vanderleyden, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2000, vol. 24, p. 487-506.
52. Caballero-Mellado, J. El género *Azospirillum*. Microbios. [En línea] [Consultado: 15-5-2006]. Disponible en: <<http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/Cap10/capitulo.html>>.

53. Shah, S.; Li, J.; Moffatt, B. A. y Glick, B. R. Isolation and characterization of ACC deaminase genes from two different plant growth-promoting rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 1998, vol. 44, p. 833-843.
54. Zakharova, E. A.; Shcherbakov, A. A.; Brudnik, V. V.; Skripko, N. G.; Bulkhin, N. Sh. y Ignatov, V. V. Biosynthesis of indole-3-acetic acid in *Azospirillum brasilense*: insights from quantum chemistry. *Eur. J. Biochem.*, 1999, vol. 259, p. 572-576.
55. Rojas, M. M. Caracterización de *Gluconacetobacter diazotrophicus* aislado de variedades de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) cultivadas en Cuba. [Tesis de grado]; Facultad de Biología. Universidad de la Habana. 2005.
56. Ramamoorthy, V.; Viswanathan, R.; Raguchander, T.; Prakasan, V. y Samiyappan, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection*, 2001, vol. 20, p. 1-11.
57. Ardon, O.; Weizman, H.; Libman, J.; Shanzer, A.; Chen, I. y Hadar, Y. Iron uptake in *Ustilago maydis*: tracking the iron path. *Journal of Bacteriology*, 1998, vol. 180, p. 2021-2026.
58. Schroth, M. N. y Hancock, J. G. Disease-suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science*, 1982, vol. 216, p. 1376-1381.
59. Sayyed, R. Z. y Chincholkar, S. B. Purification of siderophores of *Alcaligenes faecalis* on Amberlite XAD Bioresource Technology, 2006, vol. 97, p. 1026-1029.
60. Schwyn, B. y Neilands, J. B. Universal chemical assay for the detection, 1987.
61. Klumpp, C.; Burger, A.; Mislin, G. L. y Abdallah, M. A. From a total synthesis of cepabactin and its 3:1 ferric complex to the isolation of a 1:1:1 mixed complex between iron (III), cepabactin and pyochelin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2005, vol. 15, p. 1721-1724.
62. Clark, B. L. Characterization of a Catechol-type Siderophore and the Detection of a Possible Outer Membrane Receptor Protein from *Rhizobium leguminosarum* Strain IARI 312. [Tesis de Maestría], 2004.
63. Carson, K. C.; Meyer, J. M. y Dilworth, M. J. Hydroxamate siderophores of root nodule bacteria. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, vol. 32, p. 11-21.
64. Atlas, R. M. y Bartha, R. Microbial ecology: Fundamentals and Applications, The Benjamins/Cummings. Publishing Company, 1993.
65. Banger, M. G. y Thomashow, L. S. Characterization of a genomic locus required for synthesis of the antibiotic 2,4-diacetylfloroglucinol by the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* Q2-87. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1998, vol. 9, p. 83-90.
66. Maurhofer, M.; Hase, C.; Meuwly, P.; Métraux, J. y Défago, G. Induction of systematic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO: Influence of the *gacA* gene and of pyoverdinin production. *Phytopathology*, 1994, vol. 84, p. 562-570.
67. Bonsall, R. F.; Weller, D.M. y Tomashow, L. S. Quantification of 2,4-diacetylphloroglucinol by fluorescent *Pseudomonads* spp. *in vitro* and in the rhizosphere of wheat. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, vol. 63, p. 951-955.
68. Bevivino, A.; Damalstri, C.; Tabacchioni, S. y Chiarini, L. Efficacy of *Burkholderia cepacia* MCI 7 in disease suppression and growth promotion of maize. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, vol. 31, p. 225-231.
69. Dong, Y.; Zhang, X.; Xu, J. y Zhang, L. Insecticidal *Bacillus thuringiensis* silences *Erwinia carotovora* virulence by a new form of microbial antagonism, signal interference. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, vol. 70, p. 954-960.
70. Scott, E. New (and used) approaches to the study of fungal pathogenicity. *Annual Review of Phytopathology*, 2001, vol. 39, p. 337-365.
71. Kennedy, I. R. e Islam, N. The current and potential contribution of symbiotic nitrogen fixation to nitrogen requirements on farms: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 2001, vol. 41, p. 447-457.
72. Velazco, A. Utilización de *Azospirillum brasilense* en el cultivo del arroz (*Oryza sativa*) sobre un suelo Hidromórfico Gley de la provincia de Pinar del Río. [Tesis de grado]; INCA, 2001. 128 h.
73. Döbereiner, J.; Reis, V. M.; Paula, M. A. y Olivares, F. L. Endophytic diazotrophs in sugar cane, tuber plants and cereals. En: *New Horizons in Nitrogen Fixation*. Dordrecht: Kluwer, 1993. p. 671-676.
74. Okon, Y. y Kapulnik, Y. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant and Soil*, 1986, vol. 90, p. 3-16.
75. Weber, O. B.; Cruz, L. M.; Baldani, J. I. y Döbereiner, J. *Herbaspirillum*-like bacteria in banana plants. *Braz. J. Microbiol.* 2001, vol. 32, no. 3.
76. Amir, H. G.; Shamsuddin, Z. H.; Halimi, M. S.; Ramlan, M. F. y Marziah, M. N₂ fixation, nutrient accumulation and plant growth promotion by rhizobacteria in association with oil palm seedlings. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2003, vol. 6, p. 1269-1272.
77. Matora, L. Yu. y Shchegolev, S. Yu. Antigenic Identity of the Capsule Lipopolysaccharides, Exopolysaccharides, and O-Specific Polysaccharides in *Azospirillum brasilense*. *Microbiology*, 2002, vol. 71, no. 2, p. 178-181.
78. Baldani, J. I.; Baldani, V. L. D.; Seldin, L. y Döbereiner, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov. sp. nov., a root associated nitrogen-fixing bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1986, vol. 36, p. 86-93.
79. Baldani, V. L. D.; Alvarez, M. A.; Baldani, J. I. y Döbereiner, J. Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, vol. 30, p. 485-491.
80. James, E. K.; Olivares, F. L.; Baldani, J. I. y Döbereiner, J. *Herbaspirillum*, an endophytic diazotroph colonizing vascular tissue in leaves of *Sorghum bicolor* L. Moench. *J. Exp Bot.*, 1997, vol. 48, p. 785-797.
81. Shenoy, V. V.; Kalagudi, G. M. y Gurudatta, B. V. Towards nitrogen autotrophic rice. *Current Science*, 2001, vol. 81, no. 5, p. 451-457.

82. Olivares, F. L.; James, E. K.; Baldani, J. I. y Döbereiner, J. Infection of mottled stripe disease-susceptible and resistant sugar cane varieties by the endophytic diazotroph *Herbaspirillum*. *New Phytol.*, 1997, vol. 135, p. 723-737.
83. Dobbelaere, S.; Croonenborghs, A.; Thys, A.; Ptacek, D.; Vanderleyden, J.; Dutto, P.; Labandera-Gonzalez, C.; Caballero-Mellado, J.; Aguirre, J. F.; Kapulnik, Y.; Brener, S.; Burdman, S.; Kadouri, D.; Sarig, S. y Okon, Yaacov. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Aust. J. Plant Physiol.*, 2001, vol. 28, p. 871-879.
84. Mirza, M. S.; Rasul, G.; Mehnaz, S.; Ladha, J. K.; So, R. B.; Ali, S. y Malik, K. A. Beneficial effects of inoculated nitrogen-fixing bacteria on rice. En: *The Quest for Nitrogen Fixation in Rice*. International Rice Research Institute, Los Baños, 2000, p. 191-204.
85. Saura Laria, G.; Fernández-Hernández, R.; Hidalgo, J. C. Fijador de nitrógeno: *Azospirillum* sp. El Salvador: FIAGRO, 2003. 20 p.
86. Arangarasan, V.; Palaniappan, S. P.; Chelliah, S. Inoculation effects of diazotrophs and phosphobacteria on rice. *Indian Journal of Microbiology*, 1998, vol. 38, p. 111-112.
87. James, E. K.; Gyaneshwar, P.; Mathan, N.; Barraquio, W. L.; Pallavolu, M. R.; Ianetta, P. P.; Olivares, F. L. y Ladha, J. K. Infection and colonization of rice seedlings by the plant growth-promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae* Z67. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2002, vol. 15, no. 9, p. 894-906.
88. Bashan, Y. y Bashan, L. E. de. Protection of Tomato Seedlings against Infection by *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato* by Using the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum brasilense*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, vol. 68, no. 6, p. 2637-2643.
89. Muthukumarasamy, R.; Revathi, G. y Lakshminarasimhan, C. Diazotrophic associations in sugar cane cultivation in South India. *Tropical Agriculture*, 1999, vol. 76, p. 171-178.
90. Raaijmakers, J. M.; Weller, D. M. y Thomashow, L. S. Frequency of antibiotic producing *Pseudomonas* spp. in natural environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, vol. 63, p. 881-887.

Recibido: 15 de septiembre de 2006

Aceptado: 23 de mayo de 2007

Cursos de Verano

Precio: 320 CUC

Biotecnología

Coordinador: Dra.C. María M. Hernández Espinosa

Fecha: julio

Duración: 40 horas

SOLICITAR INFORMACIÓN

Dr.C. Walfredo Torres de la Noval
Dirección de Educación, Servicios Informativos
y Relaciones Públicas
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)
Gaveta Postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba. CP 32700
Telef: (53) (47) 86-3773
Fax: (53) (47) 86-3867
E.mail: posgrado@inca.edu.cu