

BIOFERTILIZACIÓN DEL GARBANZO (*Cicer arietinum* L.) CON *Mesorhizobium cicerii* CULTIVADO SOBRE SUELO FERRALÍTICO ROJO

B. Dibut[✉], T. Shagarodsky, R. Martínez, Marisel Ortega, Yoania Ríos y L. Fey

ABSTRACT. Biofertilization results from chickpea cultivar N6 with *Mesorhizobium cicerii* INIFAT-GR₁ strain cultivated on a Ferralitic Red soil are firstly reported in Cuba using a randomized block design and 25-m² plot size. The strain under study was previously selected by a bioscreening method, which showed a high colonization index obtaining high values in number, weight and nitrogen content in nodules when the minor doses of nitrogen fertilizer were applied. Plant development, evaluated by height, number and weight of pods, biomass and other indexes was not affected when nitrogen fertilizer dose was reduced to 70 % in relation to control. Finally, 1.2 t.ha⁻¹ seed yield were recorded without affecting seed quality; these results enabled to reduce agriculture chemicalization.

RESUMEN. Se ofrecen por primera vez en Cuba los resultados obtenidos de la biofertilización del garbanzo, variedad N6, con la cepa INIFAT-GR₁ de *Mesorhizobium cicerii* cultivada sobre suelo Ferralítico Rojo, empleando un diseño en bloques al azar, con un tamaño de parcela de 25 m². La cepa estudiada, previamente seleccionada por método de bioscreening, mostró un alto índice de colonización, obteniéndose valores elevados en cuanto al número, peso y contenido de nitrógeno de los nódulos formados cuando se aplicaron las dosis más reducidas de fertilizante nitrogenado. En todo momento, el comportamiento del desarrollo de las plantas en función de diferentes indicadores del crecimiento y rendimiento evaluados (altura, número y peso de las vainas, biomasa, peso de los granos), no se afectó cuando se redujo hasta un 70 % la dosis de fertilizante nitrogenado en relación con el control, resultando finalmente con la inoculación, rendimientos agrícolas del orden de 1.2 t.ha⁻¹, sin afectación de la calidad de los granos cosechados, contribuyendo de esta forma a la disminución de la quimización agrícola.

Key words: biofertilizers, *rhizobium*, chickpea, *Cicer arietinum*, nitrogen fixing bacteria

Palabras clave: biofertilizantes, *rhizobium*, garbanzo, *Cicer arietinum*, bacteria fijadora del nitrógeno

INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de alimentos debido al aumento de la población mundial ha conllevado a la utilización de variedades promisorias de importantes especies económicas, que necesitan elevadas cantidades de fertilizantes minerales y plaguicidas, con el objetivo de incrementar el rendimiento de los cultivos. Las leguminosas, importante grupo de plantas para este fin, por sus elevados contenidos en proteínas y grasas de excelente calidad entre otros componentes, tienen además la característica de poder utilizar el nitrógeno atmosférico para su

desarrollo por la vía de la asociación con bacterias del género *Rhizobium*, lo que en efecto contribuye sobremedida a atenuar las graves consecuencias que cada día enfrentan los agroecosistemas al verse peligrosamente contaminado el aire, el agua y los suelos (1, 2, 3).

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.), dentro de las leguminosas alimentarias, ocupa el segundo y tercer lugar en el mundo en superficie cultivada (9.6 x 10⁶ ha) y producción neta (7.7 x 10⁶ t), respectivamente, representando un producto de alta demanda en todos los continentes y producido por un grupo reducido de países con rendimientos promedio de 716 kg.ha⁻¹, los cuales se consideran bajos respecto a la potencialidad de las variedades (3, 4). En este sentido, en el mundo se han integrado esfuerzos entre diversos especialistas (genetistas, fisiólogos, fitopatólogos, microbiólogos y agrotecnistas) del tema, para en conjunto incrementar los rendimientos, así como la posibilidad de ampliar las áreas de adaptación para siembra de este cultivo en diferentes latitudes (2, 5).

Dr.C. B. Dibut, Investigador Auxiliar del Departamento de Biofertilizantes; T. Shagarodsky, Investigador Auxiliar del Departamento de Genética y Mejoramiento; Dr.C. R. Martínez, Investigador Titular; Marisel Ortega, Yoania Ríos y L. Fey, Especialistas del Departamento de Biofertilizantes, Instituto Nacional de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT), calle 1, esq. 2, Santiago de las Vegas, Boyeros, La Habana, CP 17200.

✉ bdibut@inifat.co.cu

La rizobiología en el garbanzo ha sido una tarea que ha contribuido notablemente a mejorar la nutrición nitrogenada e incluso a incrementar los rendimientos (6).

En Cuba, aunque este ha sido un cultivo poco estudiado, se han encuestado variedades introducidas, despejándose algunos aspectos de la agrotecnia, así como la validación de los rendimientos potenciales que en nuestras condiciones edafoclimáticas han arrojado un número apreciable de cultivares, lográndose en algunas de las variedades ensayadas rendimientos superiores al promedio mundial (7). En los años más recientes, estos resultados han sido sistemáticamente confirmados e incluso mejorados, producto de la extensión y práctica de estas pruebas en diferentes regiones del país (8, 9).

En este sentido, a pesar de haberse extendido el cultivo a varias regiones del país, no se han desarrollado estudios respecto a la potencialidad que pudiera ofrecer la biofertilización con la bacteria *Mesorhizobium cicerii*, capaz de suplir gran parte de la fertilización nitrogenada, más aún si actualmente se mantienen muchas de estas áreas donde se cultivó sin recibir fertilización alguna.

Consecuentemente y teniendo en cuenta las potencialidades del comportamiento del garbanzo en el país, se plantea como objetivos del presente trabajo el estudio de la asociación *Mesorhizobium cicerii-Cicer arietinum*, con la finalidad de obtener un biofertilizante que mejore la nutrición nitrogenada y, de ser posible, el rendimiento de esta importante especie cultivable.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los trabajos se realizaron durante el período comprendido entre 1997-2000 en instalaciones de laboratorio y campo del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT), ubicado en Santiago de Las Vegas, Ciudad de La Habana, Cuba.

Los ensayos de laboratorio fueron dirigidos hacia el aislamiento, la purificación y el cultivo de una cepa de *Mesorhizobium cicerii*, según los métodos tradicionales de monitoreo, al igual que los ensayos de determinación del nitrógeno en los nódulos y la inoculación de las semillas (10). A partir de estos ensayos, se obtuvo la cepa INIFAT-GR₁, con la cual se procedió a realizar estos estudios, al mismo tiempo que constituye la primera cepa de referencia hasta ahora presentada para este cultivo en el país. Esta cepa es conservada en la colección de fijadores de nitrógeno del Laboratorio de Biotecnología del INIFAT.

El microorganismo se cultivó en medio manitol-levadura con ayuda de un fermentador del tipo Biolafitte, regulado a 32°C de temperatura, 180 rpm de agitación y 0.54 vvm de aireación, suplementado con una porción de inóculo equivalente al 5 % (v:v) y empleando aceite mineral estéril (0.1% v:v) como antiespumante. La fermentación transcurrió durante 13 horas, obteniéndose un producto final con un título de 3.5×10^{10} UFC.mL⁻¹.

Para la obtención del inoculante sólido se empleó como soporte turba estéril (esterilizada durante 1.5 horas a 121°C), sometiendo posteriormente este material a la inoculación con 250 mL de cultivo de la bacteria por kilogramo de turba. Después de inoculado el material, se homogenizó adecuadamente y se incubó a 32°C durante 120 horas, hasta alcanzar la población deseada (4.2×10^{10} UFC.mL⁻¹); seguidamente el producto se almacenó a 6°C en cámara fría hasta su uso.

Las experiencias de campo se desarrollaron sobre suelo Ferralítico Rojo (10), cuyas características se expresan en la Tabla I. Se empleó un diseño de bloques al azar con un tamaño de parcela de 25 m² con cinco surcos y replicadas cuatro veces.

Tabla I. Características químicas del suelo empleado en el desarrollo de los estudios realizados

Tipo de suelo	MO (%)	N total (ppm)	PH (H ₂ O)	P ₂ O ₅ mg/100g	K ₂ O mg/100g	Ca cmol ⁺ .kg ⁻¹	Mg cmol ⁺ .kg ⁻¹
Ferralítico Rojo típico	2.12	42	7.2	48	56	9.7	3.3

Referente a los análisis químicos de suelo, los contenidos de materia orgánica, nitrógeno total y calcio y magnesio intercambiables se realizaron según los métodos de Walkley-Black, Kjeldhal y Mehlich, en este orden (11). Las determinaciones de pH (H₂O) se estimaron por potenciometría y las de P y K por el Método de Oniani; todo según los procedimientos analíticos y las normas establecidas para tales fines (12).

En relación con el promedio de los diferentes indicadores del clima que predominaron en campaña de siembra (1998-1999) entre octubre y marzo, las temperaturas medias oscilaron desde 12 a 18±2°C, con un rango entre 90-93 % de humedad relativa y promedio en las precipitaciones desde 60 a 75 mm. La radiación solar se comportó entre 4-6 cal.cm².dia⁻¹.

La fertilización NPK empleada fue de 100:50:165 kg.ha⁻¹, respectivamente, empleando las sales (portadores) de P y K como fertilización basal para todos los tratamientos. En este caso, se manejó la fertilización nitrogenada en base a urea a niveles de 0, 30 y 50 kg N.ha⁻¹, los cuales se combinaron con la aplicación de la bacteria, todos comparados con la dosis del elemento (100 kg N.ha⁻¹) como referencia, establecida para el cultivo según los estudios realizados con anterioridad en el INIFAT. Estos valores, al igual que la época y distancia de siembra, entre otros parámetros agrotécnicos, fueron determinados en experimentos realizados durante años anteriores (7).

La variedad encuestada N-6 procede del banco de germoplasma del propio instituto y ha sido registrada y aceptada como variedad comercial en el Registro Nacional de Variedades.

Los datos obtenidos se procesaron mediante análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan al 5 % de significación, según el programa STAT-ICTF.2, perteneciente al Departamento de Matemática Aplicada del INIFAT.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como resultado de la inoculación, se puso de manifiesto aún desde etapas tempranas del cultivo la efectividad de la cepa INIFAT-GR₁, cuando se combinó la bacterización con dosis subóptimas de fertilizante nitrogenado.

En la Tabla II, se observa este comportamiento a los 40 días de la siembra, destacándose la reducción de nódulos formados al aumentar la dosis de fertilizante nitrogenado, no detectándose diferencias significativas entre el 30 % de nitrógeno aplicado y la ausencia de este como portador de la fertilización; sin embargo, se manifiesta un mayor peso para los nódulos provenientes de las variantes donde se aplicó fertilizante en forma de urea.

Tabla II. Análisis de la nodulación producto de la bacterización con *Mesorhizobium cicerii* en el estadio de inicio de floración (40 días después de siembra)

Variante	Número de nódulos/pl (mg)	Peso seco nódulos (g/pl)	N total en nódulos	MSPA/pl (g)
N 0%+Msr.	24.10 a	8,11 b	6,72 a	29.74 c
N 30%+Msr.	23,40 a	12,45 a	6,30 a	41.05 a
N 50%+Msr.	11,86 b	12,31 a	6,16 a	36.51 b
N 100%	--	--	--	37.79 b
ESx	2.773	0.133	0.121	1.89
CV (%)	21.28	3.60	2.78	3.24

Letras iguales no difieren significativamente entre sí para $\alpha=0.05$
 MSPA/pl - Materia seca de la parte aérea por planta
 Msr - *Mesorhizobium cicerii*

Este tipo de respuesta se corresponde con la obtenida por otros autores (13, 14, 18) y se explica por la presencia de un desbalance en el metabolismo del nitrógeno en las primeras etapas del desarrollo de la planta, lo que a su vez coincide con la fase de formación y desarrollo de los nódulos, en donde se demanda una elevada disponibilidad y transporte de fotosintatos hacia el metabolismo de las raíces.

La disposición de los nódulos en la raíz se presentó de forma favorable en todos los casos, al igual que la pigmentación observada por corte longitudinal del nódulo, indicando esto último un alto contenido de leghemoglobina, compuesto que al valorarse de forma cualitativa y, en base a correlaciones existentes en relación con la fijación biológica, ofrece un estimado de esta actividad en el nódulo por parte del microsimbionte (16).

Otro aspecto que favorece el comportamiento manifestado por la inoculación en estas condiciones es la ausencia de cepas nativas en este tipo de suelo, que por lo general afectan la capacidad competitiva de la cepa seleccionada (inoculante) que se emplea (4, 6). En este sentido, a diferencia de otros cultivos como por ejemplo el frijol, maní y vigna, el garbanzo en nuestro país no parece presentar esta problemática, ya que también en otros tipos de suelos no se han detectado cepas autóctonas que afecten la capacidad de nodulación de la cepa tipo (INIFAT-GR₁) y, por tanto, la asociación planta-leguminosa (8, 9).

En este estadio, se observaron en las plantas diferencias significativas en cuanto a la producción de biomasa vegetal (MSPA), obteniéndose la mejor respuesta en los tratamientos donde se redujo un 50 y 70 % la fertilización nitrogenada, en comparación con el control (N100 %), por lo que se puede plantear que el aporte de la biofertilización contribuye de forma balanceada al crecimiento y desarrollo del sistema planta, cuando esta se combina con la reducción de la fertilización nitrogenada hasta un determinado umbral.

Por lo general, la respuesta encontrada en la planta para cuando solamente se aplica la bacteria, se puede explicar por la menor disponibilidad de fotosintatos como fuente de energía necesaria para la fijación, ya que esta fase del crecimiento se relaciona con el inicio de la removilización de estos compuestos desde las partes vegetativas hacia las reproductivas en formación, etapa en donde ejerce una gran influencia la disponibilidad de nitrógeno en forma combinada, ya que generalmente no se logra satisfacer esta demanda con el aporte brindado por la fijación biológica (2, 5, 15).

Al avanzar la edad del cultivo, también se observa una respuesta mantenida en favor de la rizobacterización (Tabla III), destacándose nuevamente el tratamiento donde se aplicó la mínima dosis del fertilizante nitrogenado como el que promueve el mayor desarrollo de la planta, reflejado por los indicadores altura y biomasa.

Tabla III. Reducción de la fertilización nitrogenada y efecto de la biofertilización sobre diferentes parámetros del crecimiento y desarrollo de plantas de garbanzo a los 60 días de la siembra

Variante	Altura de la planta (cm)	MSPA/pl (g)	Número de vainas/pl.	MS de vainas (mg)
N 0%+Msr.	49.25 c	42.12	54.00	317 b
N 30%+Msr.	63.00 a	61.08	51.30	425 a
N 50%+Msr.	58.41 a	55.44	67.10	428 a
N 100%	52.86 b	41.84	49.00	444 a
ESx	2.341	2.782 N.S	0.172 NS	0.131
CV (%)	10.26	16.59	5.61	2.98

Letras iguales no difieren significativamente entre sí para $\alpha=0.05$
 MS - Materia seca de vainas
 MSPA/pl - Materia seca de la parte aérea por planta
 Msr - *Mesorhizobium cicerii*

En este caso, no se detectan diferencias significativas en el número de vainas entre los tratamientos propuestos; sin embargo, el peso de ellas indica un balance positivo hacia las variantes fertilizadas químicamente, no existiendo diferencias con respecto al control ($100 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$) entre las dosis de 30 y 50 $\text{kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$, por lo que también se comprueba que 30 $\text{kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ se comporta como la dosis óptima a combinar con la fijación biológica del nitrógeno, indicando a su vez un aporte del 70 % del nitrógeno necesario para el normal crecimiento y desarrollo de la planta por esta vía en detrimento de su aplicación en forma de urea.

Resultados similares se han encontrado en siembras de frío en España, país que se destaca por los niveles de producción y la experiencia acumulada en el cultivo del garbanzo, informándose índices de fijación entre 65-80 % del total del nitrógeno proveniente de las plantas (6), que a su vez se corresponde con una cantidad de nitrógeno total incorporado entre 80-130 kg.ha⁻¹, cifra que también se relaciona con los resultados aquí obtenidos. Semejante respuesta a la inoculación se ha encontrado en la India y Turquía, países igualmente grandes productores de garbanzo (17).

En este sentido, una respuesta favorable en el cultivo representa un abonado inicial de 15-30 kg N.ha⁻¹ combinada con la aplicación del número necesario de bacterias para asegurar la fijación biológica, especialmente en suelos ligeros y con bajo o medio contenido de materia orgánica, a diferencia de pruebas realizadas en condiciones de alta fertilidad donde no se obtiene esta respuesta (6).

En la Tabla IV se relacionan los parámetros de rendimiento obtenidos con la biofertilización, en la cual no se observan diferencias significativas entre la fertilización química nitrogenada a su máximo valor y las diferentes reducciones de este en combinación con la aplicación del biofertilizante.

Tabla IV. Comportamiento del rendimiento al combinar la biofertilización con la reducción del fertilizante nitrogenado

Variante	Rendimiento agrícola (t/ha)	Peso de 100 granos (g)	Contenido de proteína (%)
N 0 % + Msr.	1.04	43.3	17.35 b
N 30% + Msr.	1.12	43.8	19.37 a b
N 50% + Msr.	1.28	43.5	21.84 a
N 100%	1.17	44.6	20.69 a b
E.S.x	0.45 NS	0.3 N.S	2.46
C.V (%)	15.08	1.21	7.77

Letras iguales no difieren significativamente entre sí para $\alpha=0.05$
Msr – *Mesorhizobium cicerii*

En relación con el rendimiento agrícola, se ha de destacar los valores obtenidos independientemente de las variantes experimentales (1.04-1.28 t.ha⁻¹), pues superan a la media mundial (716 kg.ha⁻¹) obtenida a su vez en países grandes productores de garbanzo y que cuentan con condiciones edafoclimáticas y de tradición agrícola favorables para el desarrollo del cultivo (16, 17).

Estos resultados indican la factibilidad que ofrece este grano para su extensión en las condiciones de Cuba, sobre todo si se tiene en cuenta que también en otras localidades como el Valle de Caujerí, aún con ausencia de un paquete agrotécnico completo, se alcanzan rendimientos superiores (1.2-1.5 t.ha⁻¹) en condiciones climáticas y de fertilidad del suelo favorables (8, 9).

Como se evidencia en la tabla, no existen diferencias significativas en relación con el peso de 100 granos entre las diferentes propuestas de fertilización, lo que indica la posibilidad del cultivo del garbanzo en estas condiciones, o similares, sin la aplicación de fertilizante nitrogenado con la obtención de buenos rendimientos y aceptable calidad de los granos; pues, a pesar de detec-

tarse diferencias significativas entre el contenido de proteínas de los tratamientos fertilizados en relación con el que comprende la ausencia de fertilización con nitrógeno más la inoculación, el valor obtenido (17.35 %) es aceptable dentro de los límites de este factor en los indicadores de calidad para esta leguminosa (18).

En relación con la variante en la cual se fertilizó con 50 kg N.ha⁻¹ más la bacteria, se obtuvieron valores del rendimiento que al no diferir estadísticamente con los obtenidos en la variante donde se aplicaron 30 kg N.ha⁻¹, hace que no se justifique por concepto de economía la aplicación adicional de 20 kg N.ha⁻¹, además de los riesgos ecológicos que podría provocar la aplicación de este exceso de fertilizante al agroecosistema en zonas establecidas para este cultivo.

Este comportamiento ha sido observado por otros y se explica como consecuencia de la capacidad de producción de sustancias fisiológicamente activas (reguladores del crecimiento, aminoácidos, vitaminas y péptidos de bajo peso molecular), que presentan estas bacterias asociadas a la capacidad de fijación del dinitrógeno (5, 15), lo que trae como consecuencia aumentos en el rendimiento en granos de la leguminosa que se acentúan al aumentar la fertilización mineral.

En otro orden, varios autores también han llegado a la conclusión de la necesidad de fertilizar en etapas iniciales de la plantación con dosis bajas de nitrógeno, facilitando de esta forma que en la planta transcurran los eventos fisiológico-bioquímicos propios de esta fase del desarrollo, lo cual en ocasiones no puede asegurarse con un suelo desprovisto del elemento nitrógeno suministrado de forma química, aún cuando este se clasifique como de media a alta fertilidad (3, 15).

Teniendo en cuenta la respuesta obtenida a la inoculación con la cepa INIFAT-GR₁ de *Mesorhizobium cicerii*, por parte de la variedad de garbanzo N-6 cultivada sobre suelo Ferralítico Rojo, se hace factible la elaboración y aplicación de un biopreparado ("GRCicer") a base del microsimbionte, que permita la reducción de hasta el 70 % de las necesidades de nitrógeno por parte de la plantación, lo que a su vez se traduce en un ahorro de 70 kg N.ha⁻¹, equivalente a 152 kg en base a urea, con el consiguiente beneficio económico de 58.00 USD por hectárea cultivable, unido al impacto ambiental por concepto de la no aplicación de la mayor parte del fertilizante nitrogenado que normalmente se recomienda para el cultivo.

Finalmente, se recomienda continuar los estudios sobre el establecimiento de *Mesorhizobium cicerii* para su asociación con el garbanzo en las diferentes zonas de cultivo mediante encuestas agrobiológicas o recolección de materiales a partir de diferentes localidades, así como iniciar estudios de interacción de otros biofertilizantes (solubilizadores del fósforo en el suelo y estimuladores del crecimiento vegetal) con la cepa seleccionada de la bacteria. Adicionalmente, debe profundizarse en la cantidad de nitrógeno fijado por el microorganismo mediante la técnica del isótopo marcado ¹⁵N, la cual permite cuantificar con gran exactitud el nitrógeno producto del complejo proceso de fijación biológica.

REFERENCIAS

1. Sasson, A. La contribución de las biotecnologías a la alimentación. *Bioteología Aplicada*, 2000, vol. 17, no. 1, p. 2-6.
2. Palmer, K. M y Young, P. W. Higher diversity of *R. leguminosarum* bv. *viciae* populations in arable soils than in grass soils. *Applied and Environmental Microb.*, 2000, vol. 66, no. 6, p. 2445-2450.
3. Piceno, Y. M. y Lovell, R. C. Stability in natural bacterial communities. I. Nutrient addition effects on rhizosphere diazotroph assemblage composition. *Microb. Ecology*, 2000, vol. 39, no. 1, p. 32-40.
4. Caballero-Mellado, J. y Martínez-Romero, E. Soil fertilization limits: The genetic diversity of *Rhizobium* in bean nodules. *Simbiosis*, 1999, vol. 26, no. 1, p. 111-121.
5. Younes, A.; Achovak, W.; Christine, M. y Thierry, H. Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp. strain isolated from sunflower roots. *App. Enviromen. Microb.*, 2000, vol. 66, no. 8, p. 3393-3398.
6. Miguel, E. de. El garbanzo una alternativa para el seco. Madrid:Mundi-Prensa, 1991. 134 p.
7. Gutiérrez, A. Influencia de la época de siembra en el comportamiento del garbanzo bajo las condiciones climáticas de Santiago de Las Vegas. Informe del periodo 1983-1984, *Archivo de INIFAT*, 1984. 8 p.
8. Shagarodsky, T. /et al./ Extensión y fomento del cultivo del garbanzo en las condiciones de Cuba. En: Reunión Anual PCCMCA 2002. Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de los Cultivos y Animales. Tecnología Agropecuaria para la Competitividad en las Cadenas Agroalimentarias (58:2002 abr. 14-21: Boca Chica), 2002.
9. Tur Rivera, T. R. Informe sobre la producción de garbanzo en el Valle de Caujerí. Dirección Provincial de Precios, Guantánamo, *Comité Estatal de Precios*, 23 p., 1991.
10. Cuba. Minagri. Instituto de Suelos. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba, AGRINFOR, Ed.: La Habana, 2000. 64 p.
11. Chapman, H. D. y Pratt, P. F. Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas. Trillas: Ed. México, 1981. 195 p.
12. Cuba. Instituto de Suelos. Manual de Análisis Químico de Suelos. CNSF- La Habana:Ministerio de La Agricultura, 1990. 34 p.
13. Botero, L. M.; Al-Niemi, T. S. y Mc Dermot, T. R. Characterization of two inducible phosphate transport system in *Rhizobium tropici*. *App. Environmen.Microb.*, 1999, vol. 66, no 1, p. 15-52.
14. Bardin, S. D. y Finan, T. M. Regulation of phosphate assimilation in *Rhizobium* (*Sinorhizobium*) *meliloti*. *Genetics*, 1999, vol. 148, no. 3, p. 1689-1700.
15. King, N. D.; Hojnaoki, D. y O-Brian, M. R. The *Bradyrhizobium japonicum* proline biosynthesis gene *proc C* is essential for symbiosis. *App. Environmen. Microb.*, 1999, vol. 66, no. 12, p. 5469-5471.
16. Vincent, J. M. Manual for the practical study of the root-nodule bacteria, Oxford:I. B. P. Handbook, 1970. 164 p.
17. Brockwell, J. y Gault, R.R. Evaluation of symbiotic response in 21 introduced lines of chickpea. *Rev. Div. Pl. Ind. CSIRO. Aust.*, 1972, vol. 9, no. 1, p. 4-11.
18. Mayer, J.; Franz, B.; Erik Steen, J.; Scholter, M. y Jurgen, H. Estimating N rhizodeposition of grain legumes using a N^{15} *in situ* stean labelling method. *Soil. Biol. Biochem.*, 2003, vol. 35, no. 1, p. 21-28.

Recibido: 14 de enero de 2004

Aceptado: 4 de agosto de 2004

DIPLOMADOS

Precio: 2000 CUC

Uso y manejo de los biofertilizantes

Coordinador: Dr.C. Nicolás Medina Basso

Duración: 1 año

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) (64) 86-3773
Fax: (53) (64) 86-3867
E.mail: posgrado@inca.edu.cu