

Selección de cepas de rizobios aisladas de ecosistemas ganaderos de Cuba, inoculadas en trigo (*Triticum aestivum*, L.)

Selection of rhizobia strains isolated from Cuban livestock production ecosystems, inoculated in wheat (*Triticum aestivum*, L.)

C.J. Bécquer, Beatriz Salas, U. Ávila, L. Palmero, J.A. Nápoles y Lisbet Ulloa

*Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spiritus,
Apdo. 2228, Zona postal 1, Sancti Spiritus, Cuba
E-mail: becquer@pastos.yayabo.inf.cu*

Resumen

Se efectuó un experimento de campo con el objetivo de seleccionar cepas de rizobio inoculadas en trigo (*Triticum aestivum*, L., var. Cuba-204), en el cual se evaluaron indicadores agroproductivos de la planta, tales como: peso seco aéreo, longitud del tallo, rendimiento de granos, peso de 1 000 granos y rendimiento de nitrógeno. Se utilizaron tres cepas de referencia, pertenecientes a diferentes géneros y especies de rizobio y 12 cepas nativas del género *Bradyrhizobium*, que fueron aisladas de raíces de leguminosas (*Centrosema*, *Neonotonia* y *Stylosanthes*), adaptadas a ecosistemas ganaderos de Sancti Spiritus, Cuba. Se aplicó un diseño experimental de bloques completamente aleatorizados, con 16 tratamientos y cuatro réplicas; uno de los tratamientos se fertilizó con 150 kg/ha (NH_4NO_3). Hubo tratamientos inoculados con las cepas comerciales USDA 191 y 25B6, y con las cepas nativas cubanas JH2, SP23, SP8, SP4, HG2 y JH1, que resultaron estadísticamente superiores al control fertilizado. Se concluye que la inoculación con rizobios influye notablemente en el desarrollo integral de la planta y que las cepas de rizobio utilizadas pueden constituir un recurso biológico valioso para la fertilización de trigo en Cuba, por lo que se recomiendan como una alternativa de alto valor ecológico y económico para la agricultura cubana.

Palabras clave: Inoculación, *Bradyrhizobium*, trigo, cepas nativas, Cuba

Abstract

A field experiment was carried out in order to select rhizobial strains inoculated to wheat (*Triticum aestivum*, L., var. Cuba-204). Several parameters of agricultural significance were assessed, such as: aerial dry weight, length of stems, grain yield, weight of 1 000 grains and nitrogen yield. Three reference strains, belonging to several rhizobial genera and species were used, as well as twelve native strains, belonging to *Bradyrhizobium* that were isolated from roots of legumes (*Centrosema*, *Neonotonia* and *Stylosanthes*), adapted to Cuban livestock ecosystems. A completely randomized block experimental design with 16 treatments and four replications was used. A treatment was fertilized with 150 kg/ha (NH_4NO_3). It was concluded that reference strains USDA 191 and 25B6, as well as native strains JH2, SP23, SP8, SP4, HG2 and JH1 were statistically higher than the fertilized control. Rhizobial inoculation positively enhanced general plants growth and development, expressed in Nitrogen content. It was demonstrated that rhizobial strains used in the experiments may constitute a valuable biological resource for the fertilization of wheat in Cuba. Biofertilization of wheat with rhizobia is strongly recommended as an alternative of a high ecological and economic value for the agriculture of Cuba.

Key words: Inoculation, *Bradyrhizobium*, wheat, native strains, Cuba

Introducción

El trigo (*Triticum aestivum*, L.) constituye un cereal importante desde el punto de vista alimenticio, tanto para el ser humano como para los animales. Este posee ventajas en su producción comparado con otros cereales, como el arroz y el maíz. Es mucho más eficiente en el uso del agua (produce más grano por unidad de agua) y su rango geográfico sobrepasa al del arroz y el maíz, por lo que se adapta a los lugares fríos y a los moderadamente calientes, lo que ha permitido que el cultivo se extienda a muchas partes del mundo (Martín, 1990).

En Cuba desde el año 1956 se obtuvo la primera variedad nacional, y posteriormente en el Instituto de Investigaciones Fundamentales de Agricultura Tropical (INIFAT) se han obtenido siete variedades resistentes a las condiciones edafoclimáticas del país (Gutiérrez, Pérez, Cabrera, Villasana, López-Cervantes, Uranga, Díaz-Esquivel y Marrero, 2005), por lo que el estudio de los factores biológicos con potencial suficiente para aumentar su productividad es una tarea de gran importancia para el desarrollo sostenible de la agricultura. De igual forma se iniciaron estudios de mejoramiento de la especie *T. aestivum* L., la que se conoce como trigo vulgar, y como producto del trabajo desarrollado a partir de la variedad brasileña BH-11 se logró la variedad de trigo Cuba-Cueto 204, bien adaptada a las condiciones del país, la cual se usó para esta investigación.

Al contar con cepas de rizobio que han sido aisladas y caracterizadas con técnicas de fisiología microbiana y biología molecular, y evaluadas en cuanto a su capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico en leguminosas (Bécquer, Prévost y Cloutier, 2001; Bécquer, Prévost, Cloutier y Laguerre, 2002; Bécquer, 2003), y dada la importancia que tiene la introducción del trigo y otros cereales en la agricultura cubana, el objetivo del presente trabajo fue inocular el trigo con estas cepas, para seleccionar las mejores.

Materiales y Métodos

Procedencia de las cepas de rizobio. Se utilizaron 12 cepas procedentes de leguminosas

Introduction

Wheat (*Triticum aestivum*, L.) is an important cereal from the food point of view, for human beings as well as for animals. It has advantages in its production as compared to other cereals, such as rice and corn. It is much more efficient in the use of water (it produces more grain per unit of water) and its geographical range exceeds that of rice and corn, for which it adapts to cold and moderately hot places, which has allowed the crop to extend to many parts of the world (Martín, 1990).

In Cuba the first national variety was obtained since 1956, and afterwards at the Institute of Fundamental Research of Tropical Agriculture (INIFAT), seven varieties resistant to the edaphoclimatic conditions of the country have been obtained (Gutiérrez, Pérez, Cabrera, Villasana, López-Cervantes, Uranga, Díaz-Esquivel and Marrero, 2005), for which the study of the biological factors with enough potential to increase their productivity is a very important task for the sustainable development of agriculture. Likewise, improvement studies of the species *T. aestivum* L., which is known as common wheat began, and as a product of the work developed from the Brazilian variety BH-11 the wheat variety Cuba-Cueto 204 was obtained, well adapted to the conditions of the country, which was used for this study.

Having rhizobia strains that have been isolated and characterized with techniques of microbial physiology and molecular biology, and evaluated regarding their capacity of atmospheric nitrogen fixation in legumes (Bécquer, Prévost and Cloutier, 2001; Bécquer, Prévost, Cloutier and Laguerre, 2002; Bécquer, 2003), and given the importance of the introduction of wheat and other cereals in Cuban agriculture, the objective of this work was to inoculate wheat with these strains, in order to select the best ones.

Materials and Methods

Provenance of the rhizobia strains. Twelve strains from naturalized legumes of Sancti Spiritus, Cuba, were used (*Centrosema*, *Neonotonia* and *Stylosanthes*), which were

naturalizadas de Sancti Spiritus, Cuba (*Centrosema*, *Neonotonia* y *Stylosanthes*), las cuales fueron confirmadas en trabajos anteriores como rizobios y ubicadas taxonómicamente en el género *Bradyrhizobium* sp. Se utilizaron también tres cepas de referencia pertenecientes a diferentes géneros y especies de rizobio (tabla 1).

Tabla 1. Cepas cubanas y de referencia utilizadas en el experimento.

Table 1. Cuban and reference strains used in the trial.

Cepa	Género y especie
JJ4	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
JJ2	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
SP21	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
SP6	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
HA1	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
HG2	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
SP20	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
TE4	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
SP12	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
HA3	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
SP15	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
JK1	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
De referencia	
ATCC10317	<i>Bradyrhizobium lupini</i>
USDA 191	<i>Sinorhizobium fredii</i>
25B6	<i>Bradyrhizobium</i> sp.

Procedimiento experimental. Las cepas crecieron en medio levadura-manitol-agar (LMA) y fueron resuspendidas en caldo-levadura-manitol (CLM) hasta lograr una unidad formadora de colonias (UFC) de 10^6 - 10^8 cél./mL. Se inoculó mediante la inmersión de las semillas durante 24 horas, a temperatura ambiente, y posteriormente se extrajeron del caldo para su secado a la sombra y siembra inmediata. En el control absoluto y el control fertilizado no inoculado se utilizó solamente el CLM. La reinoculación se efectuó a los 18 días de la siembra, con el fin de asegurar una presencia efectiva de las bacterias en la rizosfera para la colonización radicular; para ello se utilizó un inóculo bacteriano en cantidad aproximada de 5-10 mL/planta, que contenía 10^6 - 10^8 cél./mL; se usó una

confirmada en trabajos anteriores como rizobios y taxonómicamente ubicada en el género *Bradyrhizobium* sp. Three reference strains were also used, belonging to different rhizobium genera and species (table 1).

Experimental procedure. The strains grew in yeast-mannitol-agar (YMA) medium and were suspended in broth-yeast-mannitol (BYM) until reaching a colony forming unit (CFU) of 10^6 - 10^8 cel./mL. Inoculation was performed by immersing the seeds for 24 hours, at room temperature, and afterwards they were extracted from the broth for their drying under shade and immediate sowing. In the absolute control and the non inoculated fertilized control only the BYM was used. The inoculation was carried out 18 days after sowing, with the objective of ensuring an effective presence of the bacteria in the rhizosphere for root colonization; for that a bacterial inoculum was used in approximate quantity of 5-10 mL/plant, which contained 10^6 - 10^8 cel./mL, using a sprinkling backpack, with which the liquid inoculum jet was directed towards the base of the plant stem, and this activity was performed in the early morning, to avoid the excessive desiccation of the product and the death of the microorganism.

The sowing dosage was 69 kg/ha and the sowing frame was 50 cm between rows, with spaced drilling. Every plot measured 3 m x 15 m; four irrigations were applied. Ninety days after sowing harvest was carried out manually. In the fertilized treatment 150 kg N/ha (NH_4NO_3) were applied. On the other hand, due to the poor mineral content of the experimental soil (Alluvial: 2,63 mg P_2O_5 /100 g; 10,0 mg K_2O /100 g; 1,61% OM and pH 5,4), complete fertilizer was applied (NPK: 9-13-17) to all treatments, 21 days after sowing at a rate of 80 kg N/ha.

Experimental design. A completely randomized block design (Somasegaran and Hoben, 1994) was used, with 16 treatments and four replications. The data were statistically analyzed by means of a variance analysis (ANOVA) (StatGraphics Plus, version 2.0, 1994-1996, Statistical Graphics Corporation). The

mochila aspersora, con la cual se dirigió el chorro del inóculo líquido a la base del tallo de la planta, y esta actividad se hizo en horas frescas de la mañana, para evitar la desecación excesiva del producto y la muerte del microorganismo.

La dosis de siembra fue de 69 kg/ha y el marco de siembra fue de 50 cm entre surcos, a chorrillo espaciado. Cada parcela medía 3 m x 15 m; se aplicaron cuatro riegos. A los 90 días de la siembra se cosechó de forma manual. En el tratamiento fertilizado se aplicó 150 kg de N/ha (NH_4NO_3). Por otra parte, debido al pobre contenido de minerales del suelo experimental (Aluvial: 2,63 mg de P_2O_5 /100 g; 10,0 mg de K_2O /100 g; 1,61% de MO y un pH de 5,4) se aplicó fertilizante completo (NPK: 9-13-17) a todos los tratamientos, a los 21 días de la siembra, a razón de 80 kg de N/ha.

Diseño experimental. Se empleó un diseño experimental de bloques completamente aleatorizados (Somasegaran y Hoben, 1994), con 16 tratamientos y cuatro réplicas. Los datos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA) (StatGraphics Plus, versión 2.0, 1994-1996, Statistical Graphics Corporation). Las diferencias entre medias fueron halladas por la prueba LSD de Fisher ($p < 0,05$). Se construyó un dendrograma mediante el método Ward (distancia euclidiana).

Se evaluaron los siguientes indicadores agroproductivos: peso seco aéreo (PSA, g/parcela), longitud del tallo (LT, cm), rendimiento de grano (RG, kg/ha), peso de 1 000 granos (P1000G, g) y rendimiento de nitrógeno (RN, g/m²). Como criterio de selección de los mejores tratamientos se consideraron los valores estadísticamente superiores al control fertilizado.

Resultados

En el peso seco aéreo (fig. 1) se comprobó que los tratamientos inoculados con las cepas SP8 (496,2 g/parcela) y JH1 (448,2 g/parcela), así como TE4 (415,0 g/parcela), USDA 191 (386,8 g/parcela), HG2 (441,8 g/parcela), SP12 (394,3 g/parcela) y SP4 (427,7 g/parcela), presentaron valores estadísticamente superiores a los del control absoluto ($p < 0,05$). En el caso es-

differences between means were found by the LSD test of Fisher ($p < 0,05$). A dendrogram was built through the Ward method (Euclidian distance).

The following agroproductive indicators were evaluated: aerial dry weight (ADW, g/plot), stem length (SL, cm), grain yield (GY, kg/ha), weight of 1 000 grains (W1000G, g) and nitrogen yield (NY, g/m²). As selection criterion of the best treatments the values statistically higher than the fertilized control were considered.

Results

In the aerial dry weight (fig. 1) it was observed that the treatments inoculated with the strains SP8 (496,2 g/plot) and JH1 (448,2 g/plot, as well as TE4 (415 g/plot), USDA 191 (386,8 g/plot), HG2 (441,8 g/plot), SP12 (394,3 g/plot) and SP4 (427,7 g/plot), showed values statistically higher than the absolute control ($p < 0,05$). In the specific case of SP8 and JH1, their values were also statistically higher than those of the fertilized control (370,2 g/plot).

The other treatments did not show significant statistical differences with regards to the absolute control (299,1 g/plot), and the strains 25B6 and SP23 did not differ from the fertilized control.

Figure 2 shows the stem length; all the treatments, except those inoculated with the strains HA3 (61,3 cm), SP21 (62,8 cm) and HA1 (62,6 cm), were statistically higher than the absolute control (62,1 cm), and among them the treatments inoculated with the strains SP8 (72,9 cm), USDA 191 (74,9 cm), HG2 (73,3 cm), JH1 (72,4 cm), SP12 (71,1 cm), 25B6 (73,0 cm) and SP23 (74,0 cm) stood out, which did also differ significantly ($p < 0,05$) from the fertilized control (68,7 cm).

Regarding the grain yield (fig. 3), the treatments inoculated with the strains TE4 (181,0 g/m²), SP8 (197,4 g/m²), HG2 (196,8 g/m²), JH1 (200,8 g/m²), SP12 (175,9 g/m²), SP4 (192,0 g/m²), 25B6 (174,8 g/m²) and SP23 (166,5 g/m²) were corroborated to be higher than the absolute control, and those inoculated with the strains SP8, HG2, JH1 and SP4, stood out for presenting values significantly higher than the fertilized control (157,5 g/m²).

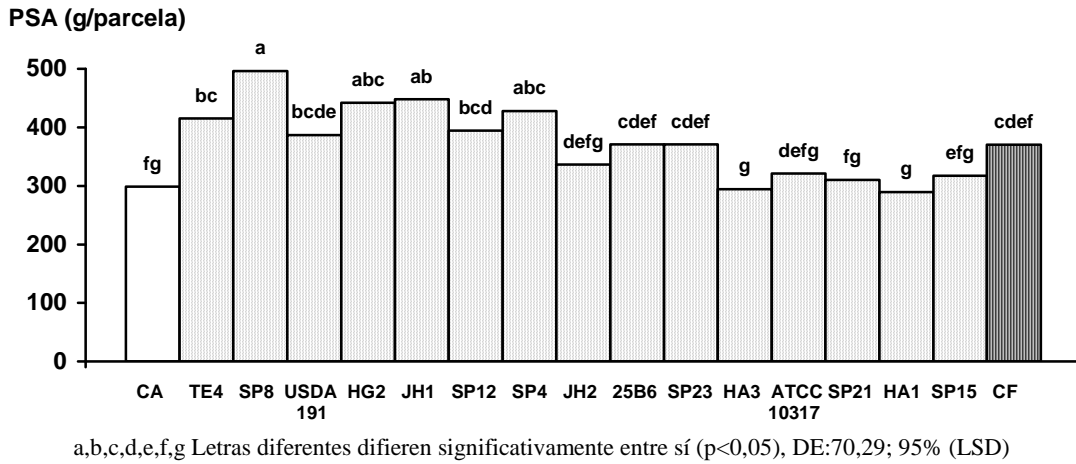


Fig. 1. Comportamiento del peso seco aéreo.
Fig. 1. Performance of aerial dry weight.

pecífico de SP8 y JH1, sus valores también fueron superiores significativamente a los del control fertilizado (370,2 g/parcela).

El resto de los tratamientos no presentó diferencias estadísticas significativas respecto al control absoluto (299,1 g/parcela), y las cepas 25B6 y SP23 no difirieron del control fertilizado.

En la figura 2 se muestra la longitud del tallo; todos los tratamientos, excepto aquellos inoculados con las cepas HA3 (61,3 cm), SP21 (62,8 cm) y HA1 (62,6 cm), fueron estadísticamente superiores al control absoluto (62,1 cm), y entre ellos se destacaron los inoculados con las cepas

The other treatments did not differ significantly from the absolute control or the fertilized control, indistinctly.

When analyzing the weight of 1 000 grains (fig. 4), the treatments inoculated with the strains SP8 (31,1 g), JH1 (30,0 g), SP4 (31,7 g), ATCC 10317 (31,1 g) and SP15 (30,2 g) were statistically higher than the absolute control (28,3 g). Within them treatments SP4 stood out, for being significantly higher than the fertilized control (29,5 g).

The other treatments showed common letters, indistinctly, with the absolute control or with the fertilized control.

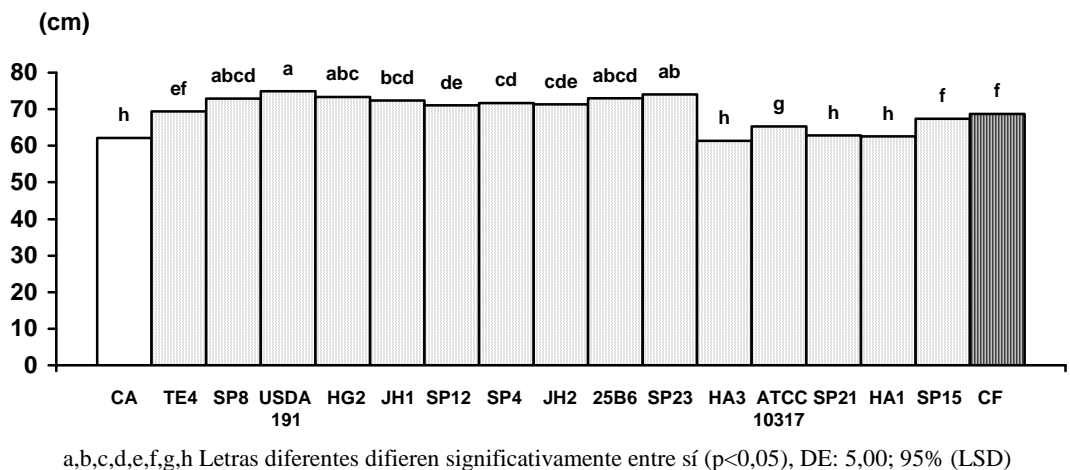


Fig. 2. Comportamiento de la longitud del tallo.
Fig. 2. Performance of stem length.

SP8 (72,9 cm), USDA 191 (74,9 cm), HG2 (73,3 cm), JH1 (72,4 cm), SP12 (71,1 cm), SP4 (71,7 cm), JH2 (71,3 cm), 25B6 (73,0 cm) y SP23 (74,0 cm), los cuales también difirieron significativamente ($p < 0,05$) del control fertilizado (68,7 cm).

En cuanto al rendimiento de grano (fig. 3), se corroboró que los tratamientos inoculados con las cepas TE4 (181,0 g/m²), SP8 (197,4 g/m²), HG2 (196,8 g/m²), JH1 (200,8 g/m²), SP12 (175,9 g/m²), SP4 (192,0 g/m²), 25B6 (174,8 g/m²) y SP23 (166,5 g/m²) fueron superiores al control absoluto, y sobresalieron los inoculados con las cepas SP8, HG2, JH1 y SP4, por presentar valores significativamente superiores al control fertilizado (157,5 g/m²).

El resto de los tratamientos no difirieron significativamente del control absoluto o del control fertilizado, indistintamente.

Al analizar el peso de 1 000 granos (fig. 4) se observó que los tratamientos inoculados con las cepas SP8 (31,1 g), JH1 (30,0 g), SP4 (31,7 g), ATCC 10317 (31,1 g) y SP15 (30,2 g) fueron estadísticamente superiores al control absoluto (28,3 g). De éstos se destacó el tratamiento SP4, por resultar significativamente superior al control fertilizado (29,5 g).

El resto de los tratamientos presentaron letras comunes, indistintamente, con el control absoluto o con el control fertilizado.

The nitrogen yield in grain (fig. 5) was higher than that of the absolute control (469,0 mg/m²) in all the treatments inoculated, except with the strain HA1 (496,6 mg/m²), and among them those inoculated with the strains SP8 (740,3 mg/m²), JH1 (739,6 mg/m²), SP4 (703,7 mg/m²), HG2 (691,4 mg/m²) and TE4 (666,1 mg/m²) stood out, for presenting values significantly higher than the fertilized control (594,3 mg/m²).

Figure 6 (dendrogram) shows the grouping of the treatments based on the variables studied. The groups formed by the treatments that stood out for their values statistically higher as compared to the fertilized treatment were numbered (USDA 191, JH2, 25B6, SP23, SP8, SP4, HG2 and JH1).

Discussion

Phillips and Torrey (1970) and Dakora (2003) stated that the most important aspect in the inoculation of diazotrophic bacteria in non leguminous species is not the fixation of atmospheric nitrogen, but the production of plant growth stimulator substances, such as auxins, cytokinins, riboflavins, vitamins and other phytohormones.

The rhizobium strains used in this trial are from livestock production ecosystems in Sancti Spiritus, some of which are under stressing edaphoclimatic conditions, and their provenance

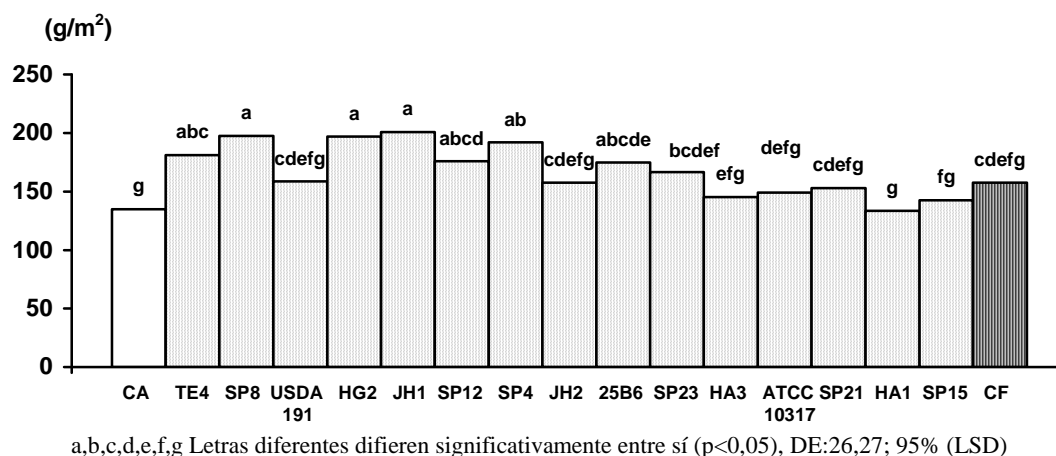


Fig. 3. Comportamiento del rendimiento de grano.

Fig 3. Performance of grain yield.

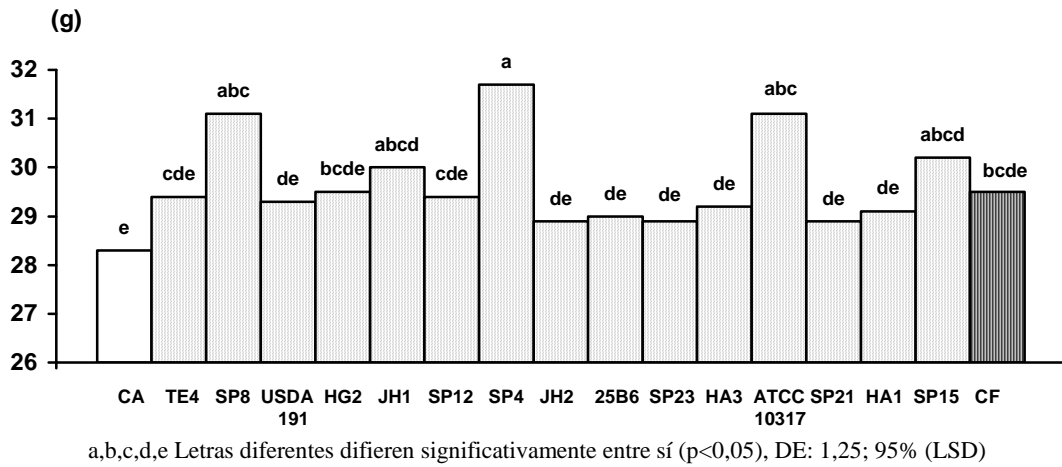


Fig. 4. Comportamiento del peso de 1 000 granos.
 Fig. 4. Performance of the yield of 1 000 grains.

El rendimiento de nitrógeno en grano (fig. 5) fue superior al del control absoluto (469,0 mg/m²) en todos los tratamientos inoculados, excepto con la cepa HA1 (496,6 mg/m²), y entre éstos sobresalieron los inoculados con las cepas SP8 (740,3 mg/m²), JH1 (739,6 mg/m²), SP4 (703,7 mg/m²), HG2 (691,4 mg/m²) y TE4 (666,1 mg/m²), por presentar valores significativamente superiores al control fertilizado (594,3 mg/m²).

En la figura 6 (dendrograma) se muestra la agrupación de los tratamientos sobre la base de las variables estudiadas. Se numeraron los grupos formados por los tratamientos que se destacaron por sus valores estadísticamente su-

periores al control absoluto (469,0 mg/m²) en todos los tratamientos inoculados, excepto con la cepa HA1 (496,6 mg/m²), y entre éstos sobresalieron los inoculados con las cepas SP8 (740,3 mg/m²), JH1 (739,6 mg/m²), SP4 (703,7 mg/m²), HG2 (691,4 mg/m²) y TE4 (666,1 mg/m²), por presentar valores significativamente superiores al control fertilizado (594,3 mg/m²).

periores al control absoluto (469,0 mg/m²) en todos los tratamientos inoculados, excepto con la cepa HA1 (496,6 mg/m²), y entre éstos sobresalieron los inoculados con las cepas SP8 (740,3 mg/m²), JH1 (739,6 mg/m²), SP4 (703,7 mg/m²), HG2 (691,4 mg/m²) y TE4 (666,1 mg/m²), por presentar valores significativamente superiores al control fertilizado (594,3 mg/m²).

periores al control absoluto (469,0 mg/m²) en todos los tratamientos inoculados, excepto con la cepa HA1 (496,6 mg/m²), y entre éstos sobresalieron los inoculados con las cepas SP8 (740,3 mg/m²), JH1 (739,6 mg/m²), SP4 (703,7 mg/m²), HG2 (691,4 mg/m²) y TE4 (666,1 mg/m²), por presentar valores significativamente superiores al control fertilizado (594,3 mg/m²).

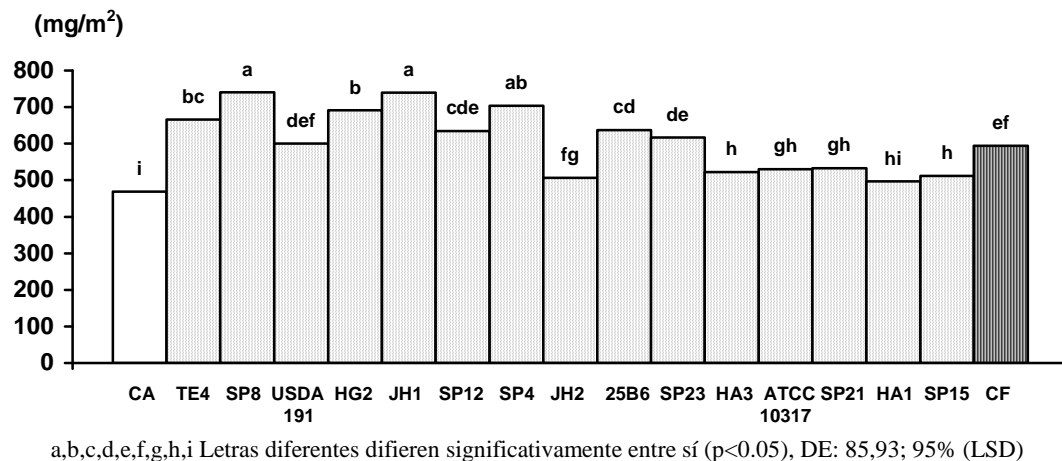


Fig 5: Comportamiento del rendimiento de nitrógeno en granos.
 Fig. 5. Performance of the nitrogen yield in grains.

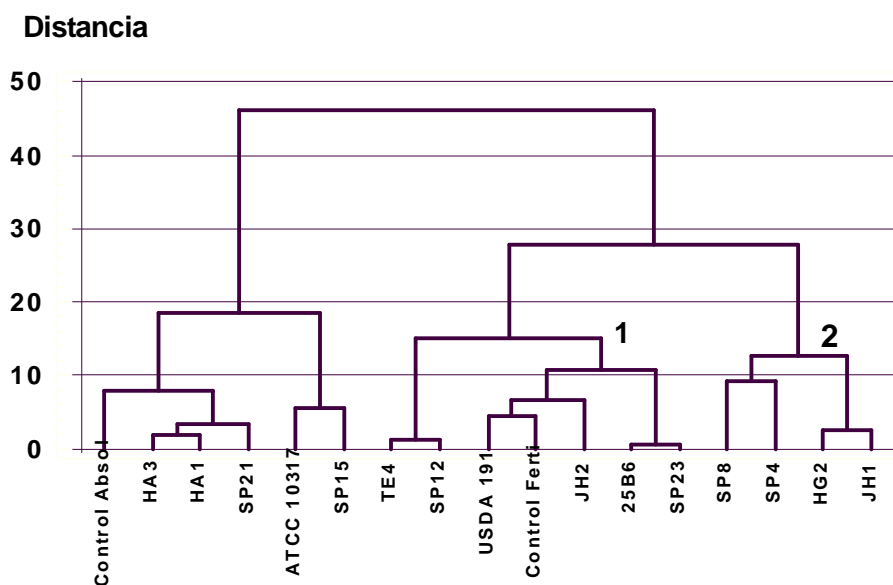


Fig. 6. Dendrograma.

Fig. 6. Dendrogram.

peiores con respecto al tratamiento fertilizado (USDA191, JH2, 25B6, SP23, SP8, SP4, HG2 y JH1).

Discusión

Phillips y Torrey (1970) y Dakora (2003) afirmaron que el aspecto más importante en la inoculación de bacterias diazotróficas en las especies no leguminosas no es la fijación de nitrógeno atmosférico, sino la producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal, tales como auxinas, citoquininas, riboflavinas, vitaminas y otras fitohormonas.

Las cepas de rizobio utilizadas en el presente experimento proceden de ecosistemas ganaderos de Sancti Spiritus, algunos de los cuales se encuentran bajo condiciones edafoclimáticas estresantes, y se tomó en consideración su procedencia al aplicarlas en una zona con deficiente contenido mineral en el suelo y un relativo estrés hídrico del cultivo. Se demostró que estas cepas también constituyen una alternativa en la biofertilización de trigo en dichas condiciones.

En el experimento se observaron tratamientos inoculados con cepas nativas y/o comerciales que presentaron valores estadísticamente

belonging to the first group, stood out, due to their values equal to or statistically lower than the absolute control. . These results contradict those obtained by Bécquer, Salas, Archambault, Slaski and Anyia (2005), when inoculating wheat plants with these same strains, under greenhouse conditions. It is possible that by changing the controlled conditions, the strains did not have the same response for being subject to the stress of an unfavourable natural environment.

It must be emphasized that the treatments inoculated with the strains SP8, HG2, JH1 and SP4 reached in the grain yield values that oscillated between 2,0 and 1,96 t/ha (extrapolated data), slightly higher than those obtained with the Canadian strains, and close to the ones reported by Villasana, Uranga and Pérez (2005); it showed that the potential of grain yield in wheat can be manifested through the biofertilization of rhizobia, independently from their geographical provenance. Hilali, Prévost, Broughton and Antoun (2001) reported that the increase in the grain yield in wheat inoculated with *Rizobium leguminosarum* was 23-25%, as compared to the absolute control. Although the strain and the genus used were different from

superiores al control absoluto; mientras que otro grupo, implícito en el primero, resultó significativamente superior al control fertilizado.

En las variables peso seco aéreo, longitud del tallo y rendimiento de grano se destacaron, por sus valores iguales o estadísticamente inferiores a los del control absoluto, los tratamientos inoculados con HA1, HA3 y SP21 (*Bradyrhizobium* sp.), pertenecientes al primer grupo. Estos resultados contradicen lo obtenido por Bécquer, Salas, Archambault, Slaski y Anyia (2005), al inocular plantas de trigo con estas mismas cepas, en invernadero. Es posible que al cambiar las condiciones controladas, las cepas no tuvieran la misma respuesta al ser sometidas al estrés de un ambiente natural desfavorable.

Es de destacar que los tratamientos inoculados con las cepas SP8, HG2, JH1 y SP4 alcanzaron en el rendimiento de grano, valores que oscilaron entre 2,0 y 1,96 t/ha (datos extrapolados), ligeramente superiores a los obtenidos con las cepas canadienses, y cercanos a los reportados por Villasana, Uranga y Pérez (2005); ello demostró que el potencial del rendimiento de grano en trigo puede manifestarse a través de la biofertilización con rizobios, independientemente de su procedencia geográfica. Hilali, Prévost, Broughton y Antoun (2001) informaron que el incremento en el rendimiento de grano en trigo inoculado con *Rhizobium leguminosarum* fue de 23-25%, en comparación con el testigo absoluto. Aunque la cepa y el género utilizado fueron diferentes a los del presente ensayo, se evidenció el efecto positivo de los rizobios en la planta en este tipo de investigaciones.

En cuanto al rendimiento de nitrógeno, se destacaron los tratamientos inoculados con las cepas TE4, 25B6, SP8, JH1, SP4 y HG2, por sus valores estadísticamente superiores a los del control fertilizado.

Se considera que las cepas influyeron notablemente en el desarrollo de la planta, lo cual pudo favorecer una mayor extracción o asimilación de nitrógeno, que pasó a formar parte del contenido mineral del grano. La producción de fitohormonas por los rizobios, según Okon y

those in this work, the positive effect of rhizobia on the plant in this type of research was shown.

Regarding the nitrogen yield, the treatments inoculated with the strains TE4, 25B6, SP8, JH1, SP4 and HG2 stood out, for their values statistically higher than the fertilized control.

The strains were considered to influence remarkably the plant development, which could have favored a higher extraction or assimilation of nitrogen, which became part of the mineral content of the grain. The production of phytohormones by the rhizobia, according to Okon and Kapulnik (1986); Zavalin, Kandaurova and Vinogradova (1998) and Saubidet, Fatta and Barnei (2000), favors a higher extraction of nutrients in the soil. The existence of some activity of the enzyme nitrogenase leading to significant fixation of the atmospheric nitrogen is not discarded, a fact corroborated by other authors (Sabry, Saleh, Batchelor, Jones, Jotham, Webster, Kothari, Davey and Cocking, 1997).

It is important to stress that the grain and nitrogen yields in this experiment were reached on soil with a very poor nutrient content, which corroborates the beneficial effect of the biofertilizer. In the dendrogram it was observed that those treatments inoculated that were selected in more than one variable were grouped in certain clusters. Of these strains, the native ones constituted 50% of the total and the commercial ones 66%.

It is concluded that the strains inoculated in the Cuban wheat variety Cuba C-204, can constitute an important resource for agricultural practice in the country, especially in those zones that are under stressing edaphoclimatic conditions. The use of a group of selected strains is recommended, which values were statistically higher than the fertilized control.

--End of the English version--

Kapulnik (1986); Zavalin, Kandaurova y Vinogradova (1998) y Saubidet, Fatta y Barnei (2000), favorece una mayor extracción de nutrientes en el suelo. No se descarta que haya existido alguna actividad de la enzima

nitrogenasa que conllevara una fijación significativa del nitrógeno atmosférico, hecho corroborado por otros autores (Sabry, Saleh, Batchelor, Jones, Jotham, Webster, Kothari, Davey y Cocking, 1997).

Es importante destacar que los rendimientos de grano y de nitrógeno en el presente experimento se alcanzaron en un suelo muy pobre en nutrientes, lo que corrobora el efecto beneficioso del biofertilizante. En el dendrograma se observó que aquellos tratamientos inoculados que se seleccionaron en más de una variable, se agruparon en determinados conglomerados. De estas cepas, las nativas constituyeron el 50% del total y las comerciales el 66%.

Se concluye que las cepas inoculadas en la variedad de trigo cubano Cuba C-204, pueden constituir un importante recurso para la práctica agrícola en el país, sobre todo en aquellas zonas que se encuentran bajo condiciones edafoclimáticas estresantes. Se recomienda la utilización de un grupo de cepas seleccionadas, cuyos valores fueron estadísticamente superiores a los del control fertilizado.

Referencias bibliográficas

- Bécquer, C.J. 2003. Avances en los estudios de la fijación biológica del nitrógeno en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spiritus. Memorias V Taller Internacional sobre Recursos Fitogenéticos. Sancti Spiritus, Cuba. p. 34
- Bécquer, C.J.; Prévost, Danielle & Cloutier, J. 2001. Aspectos fisiológicos y genotípicos en rizobios aislados de leguminosas forrajeras. *Pastos y Forrajes*. 24:123
- Bécquer, C.J.; Prévost, Danielle; Cloutier, J. & Laguerre, Gisele. 2002. Enfoque taxonómico de rizobios aislados en las leguminosas forrajeras *Centrosema plumieri*, *C. virginianum* y *Neonotonia wightii*, colectadas en Sancti Spiritus, Cuba. *Biología*. 16:137
- Bécquer, C.J.; Salas, Beatriz; Archambault, D.; Slaski, J. & Anyia, A. 2005. Inoculación de trigo (*Triticum aestivum*, L.) con rizobios adaptados a ecosistemas ganaderos de Sancti Spiritus, Cuba. Memorias VI Taller Internacional de Recursos Genéticos. Sancti Spiritus, Cuba. p. 146
- Dakora, F.D. 2003. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. *New Phytol.* 158:39
- Gutiérrez, Lisset; Pérez, Susana; Cabrera, Melba; Villasana, R.; López-Cervantes, M.; Uranga, H.; Díaz-Esquivel, M. & Marrero, Sonia. 2005. Algunas experiencias en la producción de trigo cubano. Memorias VI Taller Internacional de Recursos Fitogenéticos. Sancti Spiritus, Cuba. p. 180
- Hilali, A.; Prévost, Danielle; Broughton, W.J. & Antoun, H. 2001. Effects de l'inoculation avec des souches de *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii sur la croissance du blé dans deux sols du Maroc. *Can. J. Microbiol.* 47:590
- Martín, A. 1990. Cultivo del trigo. Producción de granos y forrajes. Editorial Limusa, México. p. 207
- Okon, Y. & Kapulnik, Y. 1986. Development and functions of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant Soil*. 90:3
- Phillips, D.A. & Torrey, J.G. 1970. Cytokinin production by *Rhizobium japonicum*. *Physiol. Plant.* 23:1057
- Sabry, S.R.S.; Saleh, S.A.; Batchelor, Caroline; Jones, J.; Jotham, J.; Webster, G.; Kothari, S.L.; Davey, M.R. & Cocking, E.C. 1997. Endophytic establishment of *Azorhizobium caulinodans* in wheat. *Proc. R. Soc. Lond. B*. 264:341
- Saubidet, M.I.; Fatta, N. & Barneix, A.J. 2000. The effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant Soil*. 245:215
- Somasegaran, P. & Hoben, H.J. 1994. Handbook for rhizobia. Springer-Verlag, New York. 400 p.
- Villasana, R.; Uranga, H. & Pérez, D. 2005. ¿Es posible producir trigo en Cuba?. *Revista ACPA*. 4:16
- Zavalin, A.A.; Kandaurova, T.M. & Vinogradova, L.V. 1998. Influence of nitrogen fixing microorganisms on the nutrition and productivity of spring wheat and on the characteristics of photosynthesis of different varieties of spring wheat. In: Biological nitrogen fixation for the 21st Century. (Eds. Elmerich, C.; Kondorosi, A. & Newton, W.E.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. The Netherlands. p. 413

Recibido el 18 de julio de 2007

Aceptado el 13 de septiembre de 2007