

Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium* sp. y de la fertilización nitrogenada en dos variedades de sorgo grano (*Sorghum bicolor* L. Moench)

Effect of the inoculation with *Bradyrhizobium* sp. and nitrogen fertilization on two grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) varieties

C. J. Bécquer, J. A. Nápoles, N. F. Fajardo, L. A. Palmero, U. Ávila, Orquidia Álvarez,
Yamilka Ramos, Maribel Quintana, Yaldreisi Galdo y Susana Vega

*Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spíritus, Apdo 2228, Zona Postal 1,
Sancti Spíritus, Cuba*

E-mail: becquer@pastos.yayabo.inf.cu

Resumen

Se realizó un experimento de campo para determinar la respuesta de dos variedades de sorgo (CIAP-2E y Sorgo Cebada) a la fertilización química y biológica con rizobios, así como la interacción de los factores estudiados. Se utilizó una cepa aislada de *Centrosema plumieri*, perteneciente a *Bradyrhizobium* sp. El diseño experimental fue de parcelas divididas, con tres tratamientos (inoculado, fertilizado y control absoluto), dos subtratamientos (Var. CIAP-2E y Sorgo Cebada) y cuatro réplicas. El tratamiento fertilizado consistió en una aplicación de 150 kg de N/ha (urea) a los 20 días de la siembra. Se observó que el factor tipo de fertilización no influyó por sí solo en los resultados experimentales, sino que interactuó con el factor variedad. Sorgo Cebada inoculado tuvo un rendimiento de 4,09 t/ha y no difirió de Sorgo Cebada fertilizado (3,52 t/ha) y CIAP-2E fertilizado (3,12 t/ha). La variedad CIAP-2E, independientemente del tipo de fertilización, resultó ser agrónomicamente promisorio, por sus resultados en el peso de 1 000 granos (27,3 g). Se recomienda inocular con la cepa HG₂ los cultivos de Sorgo Cebada y CIAP-2E, en condiciones similares a las del experimento, y profundizar en los estudios fisiológicos de la respuesta de diferentes genotipos de sorgo a la inoculación bacteriana.

Palabras clave: *Bradyrhizobium* sp., *Sorghum bicolor*

Abstract

A field trial was conducted in order to determine the response of two sorghum varieties (CIAP-2E and Sorgo Cebada) to chemical fertilization and biological fertilization with rhizobia, as well as the interaction of the studied factors. An isolated strain of *Centrosema plumieri*, belonging to *Bradyrhizobium* sp., was used. The experimental design was divided plots, with three treatments (inoculated, fertilized and absolute control), two sub-treatments (Var. CIAP-2E and Sorgo Cebada) and four replications. The fertilized treatment consisted in an application of 150 kg N/ha (urea) 20 days after planting. The factor fertilization type was not observed to influence by itself the experimental results; it rather interacted with the factor variety. Inoculated Sorgo Cebada had a yield of 4,09 t/ha and did not differ from fertilized Sorgo Cebada (3,52 t/ha) and fertilized CIAP-2E (3,12 t/ha). The variety CIAP-2E, independently from the fertilization type, turned out to be agronomically promising, for its results in the weight of 1 000 grains (27,3 g). Inoculating with the HG₂ strain the crops Sorgo Cebada and CIAP-2E is recommended, under similar conditions as the ones in the trial, and conduct further physiological studies on the response of different sorghum genotypes to bacterial inoculation.

Key words: *Bradyrhizobium* sp., *Sorghum bicolor*

Introducción

Las bacterias rizosféricas, promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, en inglés), estimulan este indicador al asociarse con las plantas hospederas (Kevin, 2003); ellas representan a una amplia variedad de bacterias presentes en el suelo. El uso de biofertilizantes a base de bacterias rizosféricas y de otros microorganismos benéficos, es un ejemplo de cómo en la agricultura se pueden abaratar los costos y preservar el medio ambiente.

Desde hace tiempo se conoce los beneficios de la inoculación, con rizobios en leguminosas. Sin embargo, el efecto positivo de las bacterias rizosféricas (entre ellas los rizobios) en las gramíneas también es un hecho científico demostrado por diferentes autores (Antoun y Prévost, 2005; Anya *et al.*, 2009), aunque este tema se ha tratado poco en el sorgo. Los estudios han demostrado que la respuesta de los cereales a la inoculación bacteriana depende del genotipo de la planta (Murty y Ladha, 1988), de la cepa de bacteria utilizada y del tipo de suelo (Baldani *et al.*, 1987); así como de las condiciones medioambientales, según Bhattarai y Hess (1993). Estos últimos autores plantean que las cepas procedentes de ecosistemas locales pueden ser seleccionadas para la inoculación de los cultivos, ya que están adaptadas al ambiente y pueden ser más competitivas que las cepas importadas.

Según Ramoa y Sánchez (1998), el sorgo o zahína (*Sorghum vulgare* o *Sorghum bicolor*) es una hierba (de la familia *Poaceae*) que se usa como forraje, y las semillas se utilizan para hacer harina. Se trata como una planta anual, aunque es perenne, y en los trópicos se puede cosechar varias veces al año. Tiene su origen en África del este y primero divergió de las variedades salvajes en Etiopía hace 5 000 años. Se adapta bien en áreas áridas o semiáridas cálidas.

Los antecedentes que existen en Cuba en cuanto a la fertilización del sorgo, se limitan a los informados por el Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes, el Instituto de Investigaciones del Arroz, el Instituto de Investigaciones Funda-

Introduction

Rhizospheric bacteria, plant growth promoters (PGPR), stimulate this indicator by associating to the host plants (Kevin, 2003); they represent a wide variety of bacteria present in the soil. The use of biofertilizers based on rhizospheric bacteria and other beneficial microorganisms, is an example of how costs can be lowered and the environment can be preserved in agriculture.

The benefits of the inoculation with rhizobia in legumes have been known for long. However, the positive effect of rhizospheric bacteria (among them rhizobia) on grasses, is also a scientific fact proven by different authors (Antoun and Prévost, 2005; Anya *et al.*, 2009), although this topic has been little approached in sorghum. The studies have shown that the response of cereals to bacterial inoculation depends on plant genotype (Murty and Ladha, 1988), on the bacterial strain used and soil type (Baldani *et al.*, 1987); as well as the environmental conditions, according to Bhattarai and Hess (1993). These last authors state that the strains from local ecosystems can be selected for crop inoculation, because they are adapted to the environment and can be more competitive than the imported strains.

According to Ramoa and Sánchez (1998), sorghum (*Sorghum vulgare* or *Sorghum bicolor*) is a grass (from the *Poaceae* family) which is used as forage, and the seeds are used to make meal. It is an annual, although perennial, plant, and in the tropics it can be harvested several times per year. It originated in eastern Africa and it first diverged from the wild varieties in Ethiopia 5 000 years ago. It adapts well in warm arid or semiarid areas.

The existing antecedents in Cuba regarding sorghum fertilization are limited to the ones reported by the Research Institute on Pastures and Forages, the Rice Research Institute, the Institute of Fundamental Research in Tropical Agriculture and the "Liliana Dimitrova" Institute of Horticultural Research, which coincide in the application of 140-150 kg N/ha, 60 kg P₂O₅/ha and 60 kg K₂O/ha, without preferences regarding the porters (Nápoles, 2006); although according

mentales en Agricultura Tropical y el Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova", los cuales coinciden en la aplicación de 140-150 kg de N/ha, 60 kg de P_2O_5 /ha y 60 kg de K_2O /ha, sin existir preferencias en cuanto a los portadores (Nápoles, 2006); aunque según Chaviano (2005), el cereal tiene buena respuesta a la fertilización orgánica.

A pesar de que hace algunos años se investiga en diversas instituciones en el extranjero en el tema de la inoculación con rizobios, en especies no pertenecientes a la familia de las leguminosas, en Cuba sólo se cuenta con los resultados previos al presente trabajo, relacionados con la selección de cepas de rizobios nativos de los ecosistemas ganaderos de la provincia Sancti Spiritus, inoculados en la variedad de sorgo ISIAP Dorado (Bécquer *et al.*, 2010).

Es por ello que el objetivo de esta investigación fue determinar la respuesta de dos variedades de sorgo a la aplicación de biofertilizante a base de rizobios y de fertilizante nitrogenado químico, así como la influencia de la variedad vegetal y la interacción de ambos factores en esa respuesta.

Materiales y Métodos

Procedencia de la cepa de rizobio. Se utilizó la cepa HG₂, aislada de *Centrosema plumieri* y perteneciente a *Bradyrhizobium* sp. (Bécquer, 2002). Esta fue una de las cepas con mejor comportamiento en diferentes variables agronómicas, al inocularse en la variedad de sorgo ISIAP Dorado en condiciones de campo (Bécquer *et al.*, 2010).

Variedades de sorgo y procedencia. Se utilizaron las variedades Sorgo Cebada y CIAP-2E, pertenecientes a *S. bicolor*. Las semillas procedían del banco de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spíritus, y están recomendadas para su siembra y utilización en Sancti Spíritus (Nápoles, 2006).

Procedimiento experimental. La cepa creció en medio sólido agarizado levadura-manitol (Vincent, 1970) y se resuspendió en medio líquido levadura-manitol hasta lograr una concentración de células viables de 8×10^{10} UFC/mL

to Chaviano (2005), the cereal has good response to organic fertilization.

Although the subject of rhizobia inoculation in non-leguminous species has been studied in some institutions abroad for several years, in Cuba only the previous results to this work are known, related to the selection of native rhizobium strains from livestock production ecosystems of the Sancti Spiritus province, inoculated in the sorghum variety ISIAP Dorado (Bécquer *et al.*, 2010).

For such reason, the objective of this research was to determine the response of two sorghum varieties to the application of rhizobium-based biofertilizer and chemical nitrogen fertilizer, as well as the influence of plant variety and the interaction of both factors on that response.

Materials and Methods

Provenance of the rhizobium strain. The HG₂ strain was used, isolated from *Centrosema plumieri* and belonging to *Bradyrhizobium* sp. (Bécquer, 2002). This was one of the strains with better performance in different agronomic variables, when inoculated on the sorghum variety ISIAP Dorado under field conditions (Bécquer *et al.*, 2010).

Sorghum varieties and provenance. The varieties Sorgo Cebada and CIAP-2E, belonging to *S. bicolor*, were used. The seeds were from the seed bank of the Sancti Spiritus Experimental Station of Pastures and Forages, and are recommended for their seeding and utilization in Sancti Spiritus (Nápoles, 2006).

Experimental procedure. The strain grew on solid yeast-mannitol agar medium (Vincent, 1970) and was re-suspended on liquid yeast-mannitol medium until achieving a viable cell concentration of 8×10^{10} CFU/mL (colony-forming unit: CFU); this maximum cell concentration was reached in order to ensure an adequate bacterial population during planting. Afterwards, the basis inoculum was added to an isotonic solution of distilled water with 0,9% of NaCl, in a 1:10 ratio until arriving at 12 L of the total inoculum. The inoculation was made in the early morning hours, with a backpack sprayer, which spray was aimed at the row, after the seed had been covered. The re-inoculation

(unidad formadora de colonias: UFC); esta concentración máxima de células se alcanzó con el objetivo de asegurar una población bacteriana adecuada durante la siembra. Posteriormente, se añadió el inóculo base a una solución isotónica de agua destilada con 0,9% de NaCl, en proporción de 1:10 hasta llegar a 12 L del inóculo total. La inoculación se realizó en las horas frescas de la mañana, con una mochila de aspersión cuyo surtidor se dirigió al surco, después de tapada la semilla. La reinoculación de los tratamientos se efectuó a los 20 días de la siembra, con un inóculo recién confeccionado que contenía 10^8 UFC/mL, concentración mínima recomendada para el inoculante líquido a base de rizobios (Hynes *et al.*, 1995), y para su aplicación se utilizó la proporción antes señalada. En este caso, el surtidor de la mochila fue dirigido a la base del tallo de la planta. La forma en que se aplicó el inóculo, al momento de la siembra y a los 20 días, respectivamente, se adecuó más a lo que es factible de realizar en la práctica agrícola, que a la conveniencia científica del método.

El experimento se sembró en la época de lluvia (finales de mayo), con un marco de 50 cm entre surcos (seis surcos por parcela). La siembra se efectuó a chorrillo espaciado, con una dosis de 12 kg/ha. Cada parcela medía 3 m x 5 m. La preparación del suelo fue convencional: rotura, grada, cruce, recruce, grada y surcado. No se aplicó riego. A los 90 días de la siembra se realizó la cosecha de forma manual y se evaluó el experimento (finales de agosto).

El tratamiento fertilizado consistió en una aplicación de 150 kg de N/ha (urea) a los 20 días de la siembra (Nápoles, 2006).

Control de plagas. De manera profiláctica se realizaron tres aplicaciones de *Bacillus thuringiensis* biovar. 26, a partir de los 15 días de la siembra (cada siete días), a razón de 6,0 L/ha. El biopreparado se aplicó con una mochila de aspersión, cuyo surtidor se dirigió a todas las partes de la planta, con énfasis en la parte foliar; la proporción fue de 1:15 hasta llegar a 16 L de volumen total, con un título inicial de 10^9 esporas/mL (Anon, 2008).

of the treatments occurred 20 days after planting, with a newly-made inoculum containing 10^8 CFU/mL, minimum concentration recommended for the liquid rhizobium-based inoculum (Hynes *et al.*, 1995), and for its application the above-mentioned ratio was used. In this case, the backpack spray was aimed at the plant stem base. The way in which the inoculum was applied, at the seeding time and 20 days afterwards, respectively, was more adapted to what is feasible in agricultural practice than to the scientific convenience of the method.

The trial was seeded in the rainy season (late May), with a planting frame of 50 cm between rows (six rows per plot). The seeding was made by spaced drilling, with a dose of 12 kg/ha. Each plot measured 3 m x 5 m. The soil preparation was conventional: break, harrow, cross, recross, harrow and furrow opening. No irrigation was applied. Ninety days after planting the harvest was manually made and the trial was evaluated (late August).

The fertilized treatment consisted in an application of 150 kg N/ha (urea) 20 days after planting (Nápoles, 2006).

Pest control. Three prophylactic applications of *Bacillus thuringiensis* biovar. 26 were made, starting 15 days after seeding (every seven days), at a rate of 6,0 L/ha. The biopreparation was applied with a backpack sprayer, which spray was aimed at all plant parts, with emphasis on the leaf part; the ratio was 1:15 until obtaining 16 L of total volume, with an initial titer of 10^9 spores/mL (Anon, 2008).

Experimental design. A divided-plot experimental design was used (Saint-Macary, 1993), with three treatments: inoculated, fertilized with nitrogen (150 kg N/ha) and absolute control; two sub-treatments (varieties CIAP-2E and Sorgo Cebada) and four replications. The main plot was the fertilization type, and the subplot, plant variety.

Measurements: Aerial dry weight (kg/plot), stem length (cm), ear weight (kg), grain yield (g/plant, extrapolated to t/ha), weight of 1 000 grains (g) and number of leaves/plant.

The samples were taken according to the methodology proposed by Saint-Macary (1993),

Diseño experimental. Se realizó un diseño experimental de parcelas divididas (Saint-Macary, 1993), con tres tratamientos: inoculado, fertilizado con nitrógeno (150 kg de N/ha) y control absoluto; dos subtratamientos (variedades CIAP-2E y Sorgo Cebada) y cuatro réplicas. La parcela principal fue el tipo de fertilización, y la subparcela, la variedad vegetal.

Mediciones. Peso seco aéreo (kg/parcela), longitud del tallo (cm), peso de la panoja (kg), rendimiento de grano (g/planta, extrapolado a t/ha), peso de 1 000 granos (g) y número de hojas/planta.

Las muestras se tomaron según la metodología de Saint-Macary (1993), con modificaciones en cuanto al tamaño del área de muestreo de acuerdo con las dimensiones de la parcela. Se evaluaron los cuatro surcos interiores (dos surcos para cada subtratamiento), con un marco de muestreo de 2 m x 4 m.

Procesamiento estadístico. Los datos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza univariante y ANOVA bifactorial (paquete estadístico SPSS, versión 15.0 para Windows). Las diferencias entre medias se hallaron por la prueba de Duncan (1955). Se aplicó un análisis de varianza bifactorial para comprobar el efecto de dos factores (variedad y tipo de fertilización: química y biológica), así como un análisis de varianza de un factor al considerar todos los tratamientos y la interacción de los factores. Los datos de la variable con conteo de dígitos (número de hojas por planta) fueron transformados por \sqrt{x} (Ostle, 1984).

Datos climáticos del período experimental. En la tabla 1 se muestra que en los meses de mayo y julio hubo poca precipitación, a pesar de lo cual no se detectaron consecuencias de estrés hídrico en el cultivo; y aunque este factor no estaba incluido dentro de las variables estudiadas, es importante señalar que el sorgo, a diferencia de otros cereales, ha mostrado ser tolerante a la falta de agua (Nápoles, 2006), por lo cual resulta ventajoso frente a otros cultivos, desde el punto de vista agronómico.

El suelo del área experimental es deficitario en P_2O_5 (tabla 2), aunque el contenido de K_2O y

with modifications in the sampling area size according to the plot size. The four inner rows were evaluated (two rows for each sub-treatment), with a sampling framework of 2 m x 4 m.

Statistical processing. The data were statistically analyzed by means of a univariate variance analysis and two-way ANOVA (statistical pack SPSS, version 15.0 for Windows). The differences among means were found through Duncan's test (1955). A two-way variance analysis was applied to test the effect of two factors (variety and fertilization type: chemical and biological), as well as a one-factor variance analysis by considering all the treatments and the factor interaction. The variable data with digit count (number of leaves per plant) were transformed by \sqrt{x} (Ostle, 1984).

Climate data of the experimental period. Table 1 shows that in May and July there was little rainfall, in spite of which no consequences of water stress were detected in the crop; and although this factor was not included within the studied variables, it is important to state that sorghum, unlike other cereals, has proven to be tolerant to water lack (Nápoles, 2006), for which it is advantageous as compared to other crops, from the agronomic point of view.

The soil of the experimental area has deficit of P_2O_5 (table 2), although the K_2O and organic matter contents are within a moderate range (Hernández *et al.*, 1999). Mantelin and Touraine (2003) stated that rhizobia can increase the access of nutrients through the stimulation of the plant ion uptake system.

Results and Discussion

In grain yield (table 3), the response of CIAP-2E to inoculation (1,95 t/ha) was statistically lower ($p < 0,01$) than that of this variety fertilized with nitrogen (3,12 t/ha) and equal to the absolute controls of both varieties. Nevertheless, the inoculated Sorgo Cebada treatment, which yield was 4,09 t/ha, showed common superscripts with fertilized Sorgo Cebada (3,52 t/ha) and fertilized CIAP-2E (3,12 t/ha), which can be considered a positive result, if it is

Tabla 1. Comportamiento de las variables climáticas durante el período experimental.
Table 1. Performance of climate variables during the experimental period.

Mes	Temperatura media (°C)	Temperatura mínima promedio (°C)	Temperatura máxima promedio (°C)	Humedad relativa media (%)	Lluvia total mes (mm)	Días con lluvia
Mayo	25,7	21,0	32,2	74	60,6	10
Junio	25,8	22,1	31,6	82	282,8	20
Julio	27,6	23,3	33,3	78	95,7	7
Agosto	27,0	22,8	32,8	81	140,1	15

Tabla 2. Composición agroquímica básica del suelo experimental.
Table 2. Basic agrochemical composition of the experimental soil.

Tipo de suelo	pH (Potenciometría)	Materia orgánica, % (Walkley-Black)	P ₂ O ₅ , mg/100g (Oniani)	K ₂ O, mg/100g (Oniani)
Pardo con diferenciación de carbonatos (Hernández <i>et al.</i> , 1999)	5,7	2,9	10,52	15,0

de materia orgánica se encuentra dentro de un rango medio (Hernández *et al.*, 1999). Mantelin y Touraine (2003) señalaron que los rizobios pueden incrementar el acceso de nutrientes a través de la estimulación del sistema de captación de iones de la planta.

Resultados y Discusión

En el rendimiento de grano (tabla 3), la respuesta de CIAP-2E a la inoculación (1,95 t/ha) fue estadísticamente inferior ($p < 0,01$) a la de esta variedad fertilizada con nitrógeno (3,12 t/ha) e igual a los controles absolutos de ambas variedades. Sin embargo, el tratamiento Sorgo Cebada inoculado, cuyo rendimiento fue de 4,09 t/ha, presentó superíndices comunes con Sorgo Cebada fertilizado (3,52 t/ha) y CIAP-2E fertilizado (3,12 t/ha), lo cual puede considerarse un resultado positivo, si se tiene en cuenta que ese tratamiento no recibió fertilización nitrogenada. Además, este tratamiento fue estadísticamente superior ($p < 0,01$) a los controles absolutos (1,83 y 1,78 t/ha), correspondientes a Sorgo Cebada y CIAP-2E, respectivamente. Perrine *et al.* (2004) encontraron cepas de *Rhizobium* productoras de altas concentraciones de ácido indol acético que estimularon el crecimiento de semillas de arroz,

taken into consideration that this treatment did not receive nitrogen fertilization. In addition, this treatment was statistically higher ($p < 0,01$) than the absolute controls (1,83 and 1,78 t/ha), corresponding to Sorgo Cebada and CIAP-2E, respectively. Perrine *et al.* (2004) found *Rhizobium* strains producing high concentrations of indoleacetic acid which stimulated the growth of rice seeds, and their effect was similar to exogenous indoleacetic acid. According to Salantur *et al.* (2006) and Matiru and Dakora (2006), the yield increase by using associative bacteria requires the most adequate combinations between plant genotypes and some specific strain, for which this premise was fulfilled in the inoculated Sorgo Cebada treatment for this variable.

In the aerial dry weight (table 3) the inoculated CIAP-2E treatment (1,74 kg/plot) showed common superscripts with the absolute control of this same variety (1,69 kg/plot); but it showed statistical superiority ($p < 0,01$) as compared to its fertilized control (1,30 kg/plot); this indicates that the possible positive effect of the native strain inoculated was equaled by that of the bacterial communities native from the rhizosphere, except in the fertilized treatment, because it is proven

Tabla 3. Resultados de ANOVA bifactorial en la interacción variedad-tipo de fertilización.
Table 3. Results of the two-way ANOVA in the variety-fertilization type interaction.

Interacción de los factores variedad y tipo de fertilización	Peso seco aéreo (kg/parcela)	Peso de la panoja (kg)	Rendimiento de grano (datos extrapolados a t/ha)	Número de hojas	
				Valor transformado (\sqrt{x})	Valor original
Sorgo Cebada - Inoculado	1,40 ^b	31,00 ^{bc}	4,09 ^a	3,36	11,40
Sorgo Cebada - Control fertilizado	1,40 ^b	50,30 ^a	3,52 ^a	3,27	10,70
Sorgo Cebada - Control absoluto	1,17 ^b	36,68 ^{bc}	1,83 ^b	3,27	10,70
CIAP-2E - Inoculado	1,74 ^a	38,78 ^{ab}	1,95 ^b	3,22	10,40
CIAP-2E - Control fertilizado	1,30 ^b	33,18 ^{bc}	3,12 ^a	3,27	10,70
CIAP-2E - Control absoluto	1,69 ^a	23,60 ^c	1,78 ^b	3,18	10,10
Coficiente de variación, %	17,95	32,56	10,75	9,92	-
Significación	p<0,01	p<0,05	p<0,01		-

y su efecto fue similar al ácido indol acético exógeno. Según Salantur *et al.* (2006) y Matiru y Dakora (2006), el aumento del rendimiento mediante el empleo de bacterias asociativas requiere de las combinaciones más correctas entre los genotipos vegetales y de alguna cepa en específico, por lo que esta premisa se cumplió en el tratamiento Sorgo Cebada inoculado para esta variable.

En el peso seco aéreo (tabla 3), el tratamiento CIAP-2E inoculado (1,74 kg/parcela) presentó superíndices comunes con el control absoluto de esa misma variedad (1,69 kg/parcela), pero mostró superioridad estadística ($p<0,01$) con respecto a su control fertilizado (1,30 kg/parcela); ello indica que el posible efecto positivo de la cepa nativa que se inoculó fue igualado por el de las comunidades bacterianas nativas de la rizosfera, excepto en el tratamiento fertilizado, ya que está comprobado que la presencia de fertilizantes nitrogenados puede afectar la supervivencia de determinadas bacterias en el suelo (Mehnaz *et al.*, 2010). En ese sentido, se recomiendan otras evaluaciones, de corte microbiológico, para llegar a un criterio conclusivo.

El peso de la panoja (38,78 kg) de CIAP-2E inoculado (tabla 3) demostró superioridad estadística solo con respecto a su control absoluto (23,60 kg); mientras que no difirió de los demás tratamientos dentro de esta variable, incluyendo el control fertilizado de cada variedad. En cuanto a los resultados en Sorgo Cebada, se observó

that the presence of nitrogen fertilizers can affect the survival of certain bacteria in the soil (Mehnaz *et al.*, 2010). In this sense, other evaluations, of microbiological type, are recommended, to arrive at a conclusive criterion.

The ear weight (38,78 kg) of inoculated CIAP-2E (table 3) showed statistical superiority only with regards to its absolute control (23,60 kg); while it did not differ from the other treatments within this variable, including the fertilized control of each variety. Regarding the results in Sorgo Cebada, the inoculated treatment was observed to show statistically lower ($p<0,01$) values as compared to the fertilized one and did not differ from the other treatments, including the absolute control. The effect produced by the phytohormones of different nature could be the main cause of these results, although until now the mechanism of the rhizobacteria-plant interaction and its positive influence, based on the production of plant growth promoting substances by bacteria has not been sufficiently elucidated (Saubidet *et al.*, 2002).

Leaf number (table 3) did not show significant differences among treatments, which could be due to the fact that both varieties belong to a common species (Ramos, Yamilka, personal communication).

In this trial the strain effect on the plants was more difficult to analyze, because the variety factor interacted with the fertilization type, and no data were obtained of the biochemical

que el tratamiento inoculado presentó valores estadísticamente inferiores ($p < 0,01$) con respecto al fertilizado y no difirió del resto de los tratamientos, incluyendo el control absoluto. El efecto producido por las fitohormonas de diferente naturaleza podría ser la causa principal de estos resultados, aunque hasta el momento no se ha dilucidado lo suficiente acerca del mecanismo de la interacción rizobacteria-planta y su influencia positiva, basado en la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal por las bacterias (Saubidet *et al.*, 2002).

El número de hojas (tabla 3) no mostró diferencias significativas entre los tratamientos, lo cual pudiera deberse a que ambas variedades pertenecen a una especie común (Ramos, Yamilka, comunicación personal).

En el presente experimento el efecto de la cepa en las plantas fue más difícil de analizar, ya que el factor variedad interactuó con el tipo de fertilización, y no se obtuvieron datos de los mecanismos bioquímicos implícitos en dichos procesos. Tanto una variedad como la otra tuvieron respuestas diferentes en sus variables, aunque sobresalió Sorgo Cebada inoculado por su respuesta en el rendimiento de grano. El hecho de que esta variable fuera más favorable a la inoculación, pero que se deprimiera el peso seco aéreo, puede deberse a que los rizobios tienen la facultad de cambiar la estructura radical de la planta, lo que provoca una mejor absorción de los nutrientes y favorece directamente la producción de semillas con relación a otros procesos fisiológicos (Biswas *et al.*, 2000).

Los resultados en la inoculación de las dos variedades no presentaron superioridad estadística con respecto a la fertilización química, excepto en el peso seco aéreo en la variedad CIAP-2E. Por otra parte, en el peso de la panoja (ambas variedades) y en el rendimiento de grano (variedad Sorgo Cebada) los valores de la inoculación y de la fertilización química se igualaron estadísticamente. Desde el punto de vista puramente estadístico este resultado positivo podría carecer de importancia, pero visto desde la práctica agronómica tiene un gran mérito, ya que a pesar de las dificultades ecológicas que

mechanisms implicit in such processes. Both varieties had different responses in their variables, although inoculated Sorgo Cebada stood out for its response in grain yield. The fact that this variable was more favorable to inoculation, but the aerial dry weight was depressed, can be due to rhizobia having the ability to change the root structure of the plant, which causes a better nutrient uptake and directly favors seed production, with regards to other physiological processes (Biswas *et al.*, 2000).

The results in the inoculation of the two varieties did not show statistical superiority as compared to chemical fertilization, except in the aerial dry weight of the variety CIAP-2E. On the other hand, in ear weight (both varieties) and grain yield (variety Sorgo Cebada), the values of inoculation and chemical fertilization were statistically equaled. From the purely statistical point of view this positive result could lack importance, but seen from the agronomic practice it has great merit, because, in spite of the ecological difficulties presupposed by the insertion of living organisms in agricultural systems, as they are at disadvantage regarding the local edaphoclimatic and biological factors (Prévost *et al.*, 1999), the yields can be equaled to those obtained by chemical fertilization, but with lower economic and environmental cost, as long as a group of factors are considered, including plant genotype.

The varieties used in this trial had different responses to inoculation in each variable; but, in general, the positive effect of the inoculated strain on the plants was shown. Nevertheless, further studies must be conducted on this subject, especially on the genotype-environment interaction.

Table 4 shows the influence of the variety factor on stem length. In this case, Sorgo Cebada (3,02 cm) showed statistically higher values ($p < 0,05$) than the variety CIAP-2E (1,67 cm). Regarding the weight of 1 000 grains (table 4), CIAP-2E (27,38 g) showed statistically higher values ($p < 0,05$) than the ones obtained by Sorgo Cebada (20,73 g). This difference between both variables could indicate a remarkable influence

presupone la inserción de organismos vivos en los ecosistemas agrícolas, por encontrarse en desventaja con relación a los factores edafoclimáticos y biológicos locales (Prévost *et al.*, 1999), se pueden igualar los rendimientos con los que se obtienen mediante la fertilización química, pero con menos costo económico y ambiental, siempre que se considere un conjunto de factores, entre los que se encuentra el genotipo vegetal.

Las variedades utilizadas en el presente experimento tuvieron respuestas diferentes a la inoculación en cada variable, pero en general se demostró el efecto positivo de la cepa inoculada en las plantas. No obstante, se impone en el futuro una profundización mayor en este tema de estudio, especialmente en la interacción genotipo-ambiente.

En la tabla 4 se muestra la influencia del factor variedad en la longitud del tallo. En este caso, Sorgo Cebada (3,02 cm) presentó valores estadísticamente superiores ($p < 0,05$) a los de la variedad CIAP-2E (1,67 cm). En cuanto al peso de 1 000 granos (tabla 4), CIAP-2E (27,38 g) mostró valores estadísticamente superiores ($p < 0,05$) a los obtenidos por Sorgo Cebada (20,73 g). Esta diferencia entre ambas variables pudiera indicar una influencia marcada de la variedad vegetal en determinadas variables agronómicas de la planta e, indudablemente, le concede un gran valor desde el punto de vista agronómico a la variedad CIAP-2E, ya que su grano alcanzó un mayor peso a pesar de que la planta tenía un menor porte. Pecina-Quintero *et al.* (2005) consideraron que la respuesta de la planta a la inoculación depende de factores diversos, entre los que se encuentra su genotipo.

of plant variety on certain agronomic variables of the plant and, undoubtedly, it assigns high value from the agronomic point of view to the variety CIAP-2E, because its grain reached higher weight although the plant was smaller. Pecina-Quintero *et al.* (2005) considered that plant response to inoculation depends on diverse factors, among which is genotype. The highest variability was observed in the trait stem length, with 30,66%.

It is concluded that the factor fertilization type did not influence by itself the experimental results; it rather significantly interacted with the factor variety. On the other hand, the positive effect of inoculation on the two sorghum varieties was observed; Sorgo Cebada stood out for its response to inoculation in the variable grain yield and the variety CIAP-2E, independently from the factor fertilization type, turned out to be agronomically promising for its results in the variable weight of 1 000 grains.

The application of the strain HG₂ of *Bradyrhizobium* sp. in crops of Sorgo Cebada and CIAP-2E is recommended, under similar conditions as the ones in this trial. In addition, further studies must be conducted on the physiological aspects of the response of different sorghum varieties to bacterial inoculation and the factor water stress, or another environmental factor, must be included in future trials of sorghum inoculation with rhizobia.

--End of the English version--

La mayor variabilidad fue observada en el carácter longitud del tallo, con 30,66%.

Se concluye que el factor tipo de fertilización no influyó por sí solo en los resultados experi-

Tabla 4. Resultados de la variedad en la longitud del tallo y en el peso de 1 000 granos.
Table 4. Variety results in stem length and weight of 1 000 grains.

Factor variedad	Longitud del tallo (cm)	Peso de 1 000 granos (g)
Sorgo Cebada	3,02	20,73
CIAP-2E	1,67	27,38
Coefficiente de variación, %	30,66	17,31
Significación	$p < 0,05$	$p < 0,05$

mentales, sino que interactuó de forma significativa con el factor variedad. Por otra parte, se constató el efecto positivo de la inoculación en las dos variedades de sorgo; Sorgo Cebada se destacó por su respuesta a la inoculación en la variable rendimiento de grano y la variedad CIAP-2E, independientemente del factor tipo de fertilización, resultó ser agronómicamente promisorio por sus resultados en la variable peso de 1 000 granos.

Se recomienda la aplicación de la cepa HG₂ de *Bradyrhizobium* sp. en cultivos de Sorgo Cebada y CIAP-2E, en condiciones similares a las del presente experimento. Además, se debe profundizar en los estudios fisiológicos de la respuesta de diferentes variedades de sorgo a la inoculación bacteriana e incluir el factor estrés hídrico, u otro de tipo ambiental, en futuros experimentos de inoculación de sorgo con rizobios.

Referencias bibliográficas

- Anon. 2008. Lista oficial de plaguicidas autorizados 2008-2010. Registro Central de Plaguicidas. República de Cuba. 421 p.
- Antoun, H. & Prévost, Danielle. 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: PGPR: Biocontrol and biofertilization. (Ed. Z.A. Siddiqui). Springer. Netherlands. 318 p.
- Anya, A.O. *et al.* 2009. Plant growth-promoting diazotrophs and productivity of wheat on the Canadian prairies. In: Microbial strategies for crop improvement. (Eds. M.S. Khan *et al.*) Springer. Heidelberg, Germany. p. 287
- Baldani, V.L.D. *et al.* 1987. Inoculation of field-grown wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum* spp. in Brazil. *Biol. Fertil. Soils*. 4:37
- Bécquer, C.J. 2002. Caracterización y selección de rizobios aislados de leguminosas nativas de Sancti Spiritus, Cuba. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad de La Habana, Cuba. 140 p.
- Bécquer, C.J. *et al.* 2010. Efecto de la inoculación con rizobios procedentes de Sancti Spiritus, Cuba, en sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), bajo condiciones de campo. Resultado científico. Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes. La Habana, Cuba
- Bhatarai, T. & Hess, D. 1993. Yield responses of Nepalese spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to inoculation with *Azospirillum* spp. of Nepalese origin. *Plant Soil*. 151:67
- Biswas, J.C. *et al.* 2000. Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Sc. Soc. of America J.* 64:1644
- Chaviano, Mariela. 2005. El sorgo: contribución al desarrollo sostenible y ecológico de la producción popular de arroz. *Revista Agricultura Orgánica*. 1:8
- Hernández, A. *et al.* 1999. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba. AGRINFOR, Ministerio de la Agricultura. La Habana, Cuba. 64 p.
- Hynes, R.K. *et al.* 1995. Liquid rhizobial inoculants for lentil and field pea. *J. Prod. Agric.* 8:547
- Kevin, V.J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*. 255:571
- Mantelin, S. & Touraine, B. 2003. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: Impacts on root development and nitrate uptake. *Journal of Experimental Botany*. 55:27
- Matiru, Vivienne & Dakora, F. 2006. Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. *African J. Biotechnol.* 3:1. <http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/viewFile/14908/58821>
- Mehnaz, Samina *et al.* 2010. Growth promoting effects of corn (*Zea mays*) bacterial isolates under greenhouse and field conditions. *Soil Biology and Biochemistry*. 42:148
- Murty, M.G. & Ladha, J.K. 1988. Influence of *Azospirillum* inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponic conditions. *Plant Soil*. 108:281
- Nápoles, J.A. 2006. Estudio de alternativas de fertilización orgánica y biológica en *Sorghum bicolor* L. Moench. Tesis en opción al grado de Maestro en Ciencias Agrícolas. Universidad Agrícola de Ciego de Ávila. Cuba. 66 p.
- Ostle, B. 1984. Estadística aplicada. Editorial Científico Técnica. La Habana, Cuba. 629 p.
- Pecina-Quintero, V. *et al.* 2005. Influencia de fecha de siembra y biofertilizantes en Sorgo. *Rev. Fitotec. Mex.* 28:389
- Perrine, F. *et al.* 2004. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of indolacetic acid and tryptophan following aqueous chloroformate derivatisation of *Rhizobium* exudates. *Plant Physiology and Biochemistry*. 42:723
- Prévost, Danielle *et al.* 1999. The potential use of cold-adapted rhizobia to improve symbiotic nitrogen

- fixation in legumes cultivated in temperate regions. In: Biotechnological application of cold-adapted organisms. (Eds. R. Margesin & F. Schinner). Springer, Berlín. p. 161
- Ramoa, H.A. & Sánchez, M.A. 1998. Cultivo de sorgo granífero. Documento. Universidad Tecnológica Nacional, Argentina. p. 10
- Saint-Macary, H. 1993. Field experiments: designs, observations and interpretation. In: Technical handbook on symbiotic nitrogen fixation. FAO. Rome. 1/6-6/6
- Salantur, A. *et al.* 2006. Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to inoculation with rhizobacteria. *Plant Soil Environ.* 52:111
- Saubidet, M.I. *et al.* 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant and Soil.* 245:215
- Vincent, J.M. 1970. A manual for the practical study of root nodules bacteria. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh. UK. 164 p.

Recibido el 31 de mayo del 2011
Aceptado el 15 de septiembre del 2011