

Efecto de la inoculación con rizobios procedentes de Sancti Spíritus, Cuba, en sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), bajo condiciones de campo

Effect of the inoculation with rhizobia from Sancti Spiritus, Cuba, in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench), under field conditions

C. J. Bécquer, Beatriz Salas, U. Ávila, L. A. Palmero, J. A. Nápoles, Yamilka Ramos, Ivis Pasarón, Lisbet Ulloa, Olga L. Colina y Yanet Suárez

Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes, Estación Experimental Sancti Spíritus, Apdo. 2228, Sancti Spíritus, Cuba
E-mail: pastosp@yayabo.inf.cu

Resumen

Se realizó un experimento de campo, con el objetivo de determinar el efecto de las cepas de rizobios en las variables agronómicas de sorgo, bajo las condiciones ambientales de Sancti Spíritus, Cuba. Se utilizaron 12 cepas de *Bradyrhizobium* sp. procedentes de Sancti Spíritus, así como tres cepas de referencia pertenecientes a diferentes géneros y especies de rizobios. El diseño experimental fue de bloques al azar, con 17 tratamientos y cuatro réplicas. Se realizó análisis de varianza y las diferencias entre medias se hallaron por LSD de Fisher ($p < 0,05$). Se evaluó el peso seco aéreo, la longitud del tallo y la longitud de la panoja. Además, se calculó el incremento del peso seco aéreo en los tratamientos inoculados, con relación al control absoluto. Los resultados demostraron la capacidad de estas cepas de influir en las variables agronómicas estudiadas, ya que existieron tratamientos que igualaron estadísticamente sus valores a los del control fertilizado y presentaron un incremento de más del 100% del peso seco aéreo comparado con el control absoluto.

Palabras clave: *Bradyrhizobium*, ecosistema, inoculación, sorghum

Abstract

A field trial was conducted, with the objective of determining the effect of rhizobium strains on the agronomic variables of sorghum, under the environmental conditions of Sancti Spiritus, Cuba. Twelve *Bradyrhizobium* sp. strains from Sancti Spiritus were used, as well as three reference strains belonging to different rhizobium genera and species. The experimental design was randomized blocks, with 17 treatments and four replications. Variance analysis was made and the differences among means were found by Fisher's LSD ($p < 0,05$). Aerial dry weight, stem length and ear length were evaluated. In addition, the increase of aerial dry weight in the inoculated treatments was calculated, as compared to the absolute control. The results proved the capacity of these strains to influence the studied agronomic variables, because there were treatments that statistically equaled their values to those of the fertilized control and showed an increase higher than 100% of aerial dry weight with regards to the absolute control.

Key words: *Bradyrhizobium*, ecosystem, inoculation, sorghum

Introducción

En la literatura especializada se informa que los rizobios son colonizadores de las raíces, pero específicos en cuanto a las plantas hospederas; por lo tanto, no pueden colonizar un amplio rango de especies de plantas (Mia y Shamsuddin, 2010). Sin embargo, Cocking (2003) observó que *Azorhizobium caulinodans* puede penetrar en el sistema radicular de los cereales y otros cultivos no pertenecientes a la familia de las leguminosas, por medio de una invasión intracelular en las células epidérmicas; así, coloniza la planta de forma intercelular, incluyendo el xilema, lo cual incrementa la posibilidad de la formación de un nicho no nodular para la fijación endosimbiótica de nitrógeno en arroz, trigo, maíz y sorgo. Según Matiru y Dakora (2004), los rizobios producen fitohormonas que promueven el crecimiento vegetal y pueden incrementar los rendimientos, a pesar de que no se ha detectado fijación de N_2 en las especies no leguminosas. Los resultados de diversos autores, entre los que se encuentran Biswas *et al.* (2000), demostraron valores estadísticos superiores en el rendimiento de grano al inocular arroz con cepas pertenecientes a *Rhizobium* sp., *Rhizobium leguminosarum* y *Bradyrhizobium* sp.

El sorgo o zahína (*Sorghum vulgare* o *Sorghum bicolor*) pertenece a la familia *Poaceae*. Este es un cultivo alimenticio importante en África, América Central y Asia Meridional; en cuanto a su producción, representa la quinta cosecha de cereal en el mundo y su mayor productor es los Estados Unidos. Nápoles (2006) plantea que el sorgo se adapta bien en áreas áridas o semiáridas cálidas y que puede ser una opción favorable para la agricultura cubana, ya que es capaz de soportar las condiciones de sequía. Debido a su sistema radical muy desarrollado y fibroso, puede explorar aproximadamente el doble del volumen que explora el maíz y llegar hasta los 75 cm de profundidad; además, ha mostrado buena adaptación a las condiciones edafoclimáticas de Cuba. Según Chaviano (2005) este cereal tiene buena respuesta a la fertilización orgánica.

Introduction

In specialized literature, rhizobia are reported to be root colonizers, but specific regarding the host plants; thus, they cannot colonize a wide range of plant species (Mia and Shamsuddin, 2010). Nevertheless, Cocking (2003) observed that *Azorhizobium caulinodans* can penetrate the root system of cereals and other non-leguminous crops, by means of an intracellular invasion in the epidermal cells; thus, it colonizes the plant in an intercellular way, including the xylem, which increases the possibility of forming a non-nodular niche for endosymbiotic nitrogen fixation in rice, wheat, corn and sorghum. According to Matiru and Dakora (2004), rhizobia produce phytohormones which promote plant growth and can increase yields, although N_2 fixation has not been detected in non-leguminous species. The results obtained by different authors, among which are Biswas *et al.* (2000), showed higher statistical values in grain yield when inoculating rice with strains belonging to *Rhizobium* sp., *Rhizobium leguminosarum* and *Bradyrhizobium* sp.

Sorghum (*Sorghum vulgare* or *Sorghum bicolor*) belongs to the *Poaceae* family. It is an important food crop in Africa, Central America and Southern Asia; regarding its production, it represents the fifth cereal crop in the world and its largest producer is the United States. Nápoles (2006) states that sorghum adapts well in hot arid or semiarid areas and can be a favorable option for Cuban agriculture, because it is capable of withstanding drought conditions. Due to its highly developed and fibrous root system, it can explore approximately twice the volume explored by corn and reach 75 cm of depth; besides, it has shown good adaptation to Cuban edaphoclimatic conditions. According to Chaviano (2005), this cereal responds well to organic fertilization.

In Cuba sorghum areas have increased since 2001 until reaching 850 828 ha in 2004 (Canet *et al.*, 2005), with yields that oscillate between 1,1 and 2,0 t/ha. The need to use low fertility soils obliges to make a correct agronomic management in plant nutrition, where the use of

En Cuba las áreas sembradas de sorgo se han incrementado a partir del año 2001 hasta alcanzar la cifra de 850 828 ha en el 2004 (Canet *et al.*, 2005), con rendimientos que oscilan entre 1,1 y 2,0 t/ha. La necesidad de utilizar suelos de escasa fertilidad obliga a un correcto manejo agronómico en la nutrición de las plantas, donde el empleo de biofertilizantes debe ocupar un lugar primordial, por sus ventajas económicas y ecológicas.

Los rizobios utilizados en este experimento fueron aislados de leguminosas nativas o naturalizadas de ecosistemas ganaderos de Sancti Spiritus, los cuales se encuentran bajo diferentes tipos de estrés ambiental. Bhattarai y Hess (1993) y Neves y Rumjanek (1997) plantearon que las cepas procedentes de ecosistemas locales están adaptadas al ambiente y pueden ser más competitivas que las cepas importadas, principio en el cual se basó la utilización de estas bacterias en el experimento. El objetivo de la investigación fue determinar el efecto de cepas de rizobios cubanos, en las variables agronómicas de una variedad de sorgo destinado a la alimentación del ganado vacuno, bajo las condiciones ambientales de Sancti Spiritus.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 12 cepas procedentes de leguminosas naturalizadas de Sancti Spiritus, Cuba (*Centrosema*, *Neonotonia* y *Stylosanthes*). Estas cepas fueron confirmadas como rizobios en trabajos anteriores, mediante la utilización de métodos de microbiología clásica y biología molecular, y ubicadas taxonómicamente en el género *Bradyrhizobium* sp. (Bécquer, 2002). Se emplearon también tres cepas de referencia de diferentes géneros y especies de rizobios (tabla 1). Los trabajos de aislamiento e identificación se realizaron en los laboratorios de microbiología del suelo de la Estación Experimental Agronómica de Sainte-Foy, perteneciente a Agriculture and Agri-Food Canada, Québec, Canadá.

La variedad de sorgo utilizada fue ISIAP Dorado (*Sorghum bicolor* L. Moench), procedente de la finca de semillas de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spiritus.

biofertilizantes must have an essential role, because of their economic and ecological advantages.

The rhizobia used in this trial were isolated from native or naturalized legumes from livestock production systems of Sancti Spiritus, which are under different types of environmental stress. Bhattarai and Hess (1993) and Neves and Rumjanek (1997) stated that the strains from local ecosystems are adapted to the environment and can be more competitive than imported strains, principle on which the use of these bacteria in this trial was based. The objective of the study was to determine the effect of Cuban rhizobium strains on the agronomic variables of a sorghum variety destined for cattle feeding, under the environmental conditions of Sancti Spiritus.

Materials and Methods

Twelve strains from naturalized legumes of Sancti Spiritus, Cuba (*Centrosema*, *Neonotonia* and *Stylosanthes*) were used. These strains had been confirmed as rhizobia in previous works, through the utilization of methods from classical microbiology and molecular biology, and taxonomically placed in the genus *Bradyrhizobium* sp. (Bécquer, 2002). Three reference strains from different rhizobium genera and species were also used (table 1). The isolation and identification works were made in the soil microbiology laboratories of the Sainte-Foy Agronomic Experimental Station, belonging to Agriculture and Agri-Food Canada, Quebec, Canada.

The sorghum variety used was ISIAP Dorado (*Sorghum bicolor* L. Moench), from the seed farm of the Sancti Spiritus Experimental Station of Pastures and Forages.

The strains grew in yeast-mannitol agar medium and were re-suspended in yeast-mannitol broth (Vincent, 1970) until achieving a cell concentration of 10^6 - 10^8 CFU/mL. The inoculation was made by immersing the seeds for 24 hours in the inoculum at room temperature and, afterwards, they were extracted from the broth to be dried under shade and planted immediately (Sabry *et al.*, 1997). For the absolute

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

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

Cepas	Género y especie
<i>Nativas</i>	
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.
<i>De referencia</i>	
ATCC10317	<i>Bradyrhizobium lupini</i>
USDA 191	<i>Sinorhizobium fredii</i>
25B6	<i>Bradyrhizobium</i> sp.

Las cepas crecieron en medio levadura-manitol-agar y fueron resuspendidas en caldo-levadura-manitol (Vincent, 1970) hasta lograr una concentración celular de 10^6 - 10^8 UFC/mL. La inoculación se realizó mediante la inmersión de las semillas durante 24 horas en el inóculo a temperatura ambiente y, posteriormente, se extrajeron del caldo para su secado a la sombra y siembra inmediata (Sabry *et al.*, 1997). Para el control absoluto y el control fertilizado no inoculado se utilizó solamente el medio caldo-levadura-manitol. La reinoculación de los tratamientos 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, con un inóculo bacteriano en cantidad de 10 mL/planta, que contenía 10^6 - 10^8 UFC/mL; para ello se utilizó una mochila aspersora, cuyo surtidor se dirigió a la base del tallo de la planta. Esta actividad se hizo en horas frescas de la mañana para evitar la desecación excesiva del producto.

La dosis de siembra fue de 12 kg/ha (Anon, 1990) y se empleó un marco de 50 cm entre surcos, sembrados a chorrillo espaciado. Cada

and non-inoculated fertilized control only the yeast-mannitol broth medium was used. The re-inoculation of the treatments was carried out 18 days after planting, in order to ensure an effective presence of the bacteria in the rhizosphere for root colonization, with a bacterial inoculum at a rate of 10 mL per plant, containing 10^6 – 10^8 CFU/mL; for that purpose a backpack sprayer was used, which spray was aimed at the plant stem base. This activity was performed in the early morning hours to prevent the excessive desiccation of the product.

The seeding dose was 12 kg/ha (Anon, 1990) and a frame of 50 cm between rows was used, planting with spaced drilling. Each plot measured 3 x 15 m. Irrigation was applied four times, because the trial was seeded in the dry season (table 2) and harvest was done after 90 days, manually. The fertilized treatment consisted in an application of 150 kg N/ha (NH_4NO_3). A basis fertilization (NPK: 9-3-17) was applied to all treatments, including the absolute control and fertilized control, 21 days after seeding, at a rate of 80 kg N/ha.

The experimental design consisted in randomized blocks (Somasegaran and Hoben, 1994), with 17 treatments and four replications. The data were statistically analyzed through a variance analysis (ANOVA) (StatGraphics Plus, version 2.0, 1994-1996, Statistical Graphics Corporation). The differences among means were found by Fisher's LSD (Least Significant Difference) test ($p < 0.05$). The following agronomic variables were evaluated: aerial dry weight (g/plot), stem length (cm), ear length (cm) and ear dry weight (kg). The increase percentage in the aerial dry weight of the inoculated treatments was calculated, with regards to the absolute control.

The climate variables during the experimental period are shown in table 2, and soil characteristics appear in table 3.

Results and Discussion

Table 3 shows that the soil of the experimental areas corresponds to the Alluvial type (Anon, 1979), which has deficit of P_2O_5 and organic

parcela medía 3 x 15 m. Se aplicaron cuatro riegos, ya que el experimento se sembró en la época poco lluviosa (tabla 2) y a los 90 días se realizó la cosecha, de forma manual. El tratamiento fertilizado consistió en una aplicación de 150 kg de N/ha (NH_4NO_3). Se aplicó una fertilización de base (NPK: 9-13-17) a todos los tratamientos, incluyendo el control absoluto y el control fertilizado, a los 21 días de la siembra, a razón de 80 kg de N/ha.

El diseño experimental fue en bloques al azar (Somasegaran y Hoben, 1994), con 17 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 se hallaron por la prueba LSD (Least Significant Difference) de Fisher ($p < 0,05$). Se evaluaron las siguientes variables agronómicas: peso seco aéreo (g/parcela), longitud del tallo (cm), longitud de la panoja (cm) y peso seco de la panoja (kg). Se calculó el porcentaje de incremento en el peso seco aéreo de los tratamientos inoculados, con respecto al control absoluto.

Las variables climáticas durante el período experimental se muestran en la tabla 2, y las características del suelo en la tabla 3.

matter, this being characteristic of this soil type (Hernández *et al.*, 1999). These agrochemical characteristics were taken into consideration to make a fertilization of the trial (all treatments), and thus stimulate plant growth in their first phenological stages.

The marked nutrient deficit in the soil coincides, in general, with some of the stressing environmental conditions faced in sorghum cultivation in Sancti Spiritus; in addition, it provides higher reliability on the experimental results, because a significant interference is not likely to appear due to the high availability of macroelements which could mask the positive effect of the strains, based on their properties as plant growth promoting organisms.

In aerial dry weight (table 4), it was observed that the treatments, except those inoculated with the strains TE4 (619,5 g/plot) and SP8 (590,0 g/plot), were statistically higher ($p < 0,05$) than the absolute control (431 g/plot). Conversely, the other treatments showed common letters with the fertilized control (729,7 g/plot), for which the positive effect of the inoculated strains is shown. In this sense, Chi *et al.* (2005) determined that the *Azorhizobium*, *Sinorhizobium* and *Mesorhizobium* strains inoculated in rice significantly increased the aerial dry weight of

Tabla 2. Comportamiento de las variables climáticas durante el período experimental.
Table 2. Performance of the climate variables during the experimental period.

Mes	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima absoluta (°C)	Humedad relativa media (%)	Lluvia total mes (mm)	Lluvia máxima 24 horas (mm)
Enero	20,8	31,6	74	-	-
Febrero	20,9	32,3	73	-	-
Marzo	23,8	34,4	74	29,3	12,6

Tabla 3. Composición agroquímica básica del suelo experimental
Table 3. Basic agrochemical composition of the experimental soil.

Tipo de suelo	P ₂ O ₅ (mg/100 g) (Oniani)	K ₂ O (mg/100 g) (Oniani)	Materia orgánica (%) (Walkley-Black)	pH (Potenciometría)
Aluvial (Anon, 1979)	2,63	10,00	1,61	5,4

Resultados y Discusión

La tabla 3 muestra que el suelo del área experimental corresponde al tipo Aluvial (Anon, 1979), que es deficitario en P_2O_5 y materia orgánica, lo cual es característico de este tipo de suelo (Hernández *et al.*, 1999). Estas características agroquímicas se tuvieron en cuenta para hacer una fertilización de fondo al experimento (todos los tratamientos), y así estimular el crecimiento de las plantas en sus primeros estadios fenológicos.

El déficit marcado de nutrientes en el suelo coincide, en general, con algunas de las condiciones ambientales estresantes que se enfrentan en el cultivo del sorgo en Sancti Spíritus; además, propicia una mayor confiabilidad en los resultados experimentales, ya que no es probable que haya una interferencia significativa por una alta disponibilidad de macronutrientes que pudiera enmascarar el efecto positivo de las cepas, basado en sus propiedades como organismos promotores del crecimiento vegetal.

En el peso seco aéreo (tabla 4) se observó que los tratamientos, excepto aquellos inoculados con las cepas TE4 (619,5 g/parcela) y SP8 (590,0 g/parcela), resultaron estadísticamente superiores ($p < 0,05$) al control absoluto (431,0 g/parcela). Por otra parte, el resto de los tratamientos presentaron letras comunes con el control fertilizado (729,7 g/parcela), por lo que se denota el efecto positivo de las cepas inoculadas. En este sentido, Chi *et al.* (2005) determinaron que las cepas de *Azorhizobium*, *Sinorhizobium* y *Mesorhizobium* inoculadas en arroz, incrementaron significativamente el peso seco aéreo de este cereal, por lo que se corrobora, en general, el efecto positivo de esta bacteria en los cereales.

Al calcular el porcentaje de incremento en el peso seco aéreo (tabla 4), se determinó que aunque todos los tratamientos superaron al control absoluto, sobresalieron con más del 70% los inoculados con las cepas nativas: HG2 (74,00%), JH1 (78,65%), SP23 (90,26%), HA1 (74,00%) y SP15 (72,00%); mientras que solo los inoculados con las cepas comerciales ATCC 10317 (100,00%) y HA3 (102,09%) mostraron un 100%

this cereal, the positive effect of this bacterium on cereals, in general, being corroborated.

When calculating the increase percentage in the aerial dry weight (table 4), it was determined that although all treatments exceeded the absolute control, the ones inoculated with the native strains: HG2 (74,00%), JH1 (78,65%), SP23 (90,26%), HA1 (74,00%) and SP15 (72,00%) stood out with more than 70%; while only those inoculated with the commercial strains ATCC 10317 (100,00%) and HA3 (102,09%) showed a 100% increase or exceeded that value. The last ones had common superscripts with the fertilized control and were statistically higher than the absolute control, for which they were considered to be the most promising strains (among those evaluated) for their application in practice. Such results are higher than the ones reported by Prévost *et al.* (2000) when inoculating corn with commercial *Bradyrhizobium japonicum* strains, with which increases were obtained in the plant aerial dry weight from 6,7 to 8,7%, as compared to the absolute control.

In stem length (table 4) it was observed that, except the treatments inoculated with the strains TE4 (1,16 m), USDA 191 (1,13 m) and HA1 (1,12 m), the others were statistically higher ($p < 0,05$) than the absolute control (1,13 m). Those inoculated with the strains HA3 (1,24 m), SP23 (1,23 m), 25B6 (1,26 m), HG2 (1,23 m) and SP8 (1,24 m) did not show significant differences with the fertilized control (1,25 m), and were higher than the ones inoculated with the strains TE4 (1,16 m), SP12 (1,18 m), SP4 (1,19 m), JH2 (1,19 m), SP21 (1,18 m) and HA1 (1,12 m). According to these data, the statements by Dobbelaere *et al.* (2003) are corroborated, regarding the fact that rhizobia can stimulate the growth and yield of non-leguminous plants. Conversely, the agrochemical characteristics of the experimental area (table 3), where low phosphorus and organic matter availability was evidenced, could have caused that a large part of the benefit obtained by the plant in the inoculated treatments was due to phosphate solubilization by the rhizobia; this feature, according to Richardson (2001), is the most

Tabla 4. Variables agronómicas en sorgo inoculado con rizobios.
Table 4. Agronomic variables in sorghum inoculated with rhizobia.

Tratamiento	Peso seco aéreo (g/parcela)	Longitud del tallo (m)	Longitud de la panoja (cm)	Peso seco panoja (kg/parcela)	Incremento del PSA en los tratamientos inoculados con respecto al control absoluto (%)
TE4	619,5 ^{de}	1,16 ^{ef}	18,6 ^g	3,27 ^{bcd}	43,74
SP8	590,0 ^{de}	1,24 ^{ab}	21,4 ^{ef}	2,80 ^{de}	36,89
HG2	749,9 ^{abcd}	1,23 ^{ab}	21,6 ^{def}	4,05 ^{ab}	74,00
JH1	770,0 ^{abcd}	1,20 ^{bcd}	21,2 ^{ef}	4,00 ^{ab}	78,65
SP12	661,1 ^{cd}	1,18 ^{de}	21,8 ^{def}	3,00 ^{cde}	53,39
SP4	669,0 ^{bcd}	1,19 ^{cde}	22,2 ^{cde}	1,75 ^{fg}	55,22
JH2	722,0 ^{abcd}	1,19 ^{cde}	22,6 ^{bcd}	2,83 ^{de}	67,52
SP23	820,0 ^{abc}	1,23 ^{ab}	21,6 ^{def}	4,20 ^a	90,26
HA3	871,0 ^a	1,24 ^{ab}	23,8 ^{ab}	2,53 ^{ef}	102,09
SP21	660,0 ^{cd}	1,18 ^{de}	20,4 ^f	2,83 ^{de}	53,13
HA1	749,9 ^{abcd}	1,12 ^g	23,6 ^{abc}	2,37 ^{ef}	74,00
SP15	741,3 ^{abcd}	1,21 ^{bcd}	23,0 ^{ab}	2,80 ^{de}	72,00
25B6	691,2 ^{abcd}	1,26 ^a	21,6 ^{def}	3,70 ^{abc}	60,37
ATCC 10317	860,0 ^{ab}	1,23 ^{abc}	23,0 ^{ab}	2,65 ^{de}	100,00
USDA 191	680,0 ^{abcd}	1,13 ^{fg}	22,0 ^{de}	2,40 ^{ef}	57,77
Control absoluto	431,0 ^e	1,13 ^{fg}	20,4 ^f	1,50 ^g	
Control fertilizado	729,7 ^{abcd}	1,25 ^a	24,2 ^a	3,50 ^{abcd}	
95 % conf. LSD	EE ±67,39	EE ±0,01	EE ±0,53	EE ±0,24	

abcdefg Medias con letras diferentes dentro de cada fila difieren entre sí a $p < 0,05$ (Duncan, 1955)

de incremento o sobrepasaron ese valor. Estos últimos tuvieron superíndices comunes con el control fertilizado y fueron superiores estadísticamente al control absoluto, por lo que se considera que fueron las cepas más promisorias (entre las evaluadas) para su aplicación en la práctica. Dichos resultados son superiores a los reportados por Prévost *et al.* (2000) al inocular maíz con cepas comerciales de *Bradyrhizobium japonicum*, con lo cual se obtuvieron incrementos en el peso seco aéreo de la planta desde 6,7 hasta 8,7%, en comparación con el control absoluto.

En la longitud del tallo (tabla 4) se observó que, excepto los tratamientos inoculados con las cepas TE4 (1,16 m), USDA 191 (1,13 m) y HA1 (1,12 m), el resto resultó estadísticamente superior ($p < 0,05$) al control absoluto (1,13 m). Los inoculados con las cepas HA3 (1,24 m), SP23

common action form involved in plant growth promotion by rhizobacteria, increasing nutrient utilization by the host plant.

In the variable ear length (table 4), the strains USDA 191 (22,0 cm), SP4 (22,2 cm), JH2 (22,6 cm), HA3 (23,8 cm), ATCC 10317 (23,0 cm) HA1 (23,6 cm) and SP15 (23,0 cm) showed significant differences ($p < 0,05$) with regards to the absolute control (20,4 cm). From them, HA3, ATCC 10317, HA1 and SP15 did not differ from the fertilized control (24,2 cm). There are no comparison patterns for this variable, but the authors of this work infer that one of the causes may be the influence of the rhizobium-produced hormones, because these inoculated treatments showed statistically higher values than the absolute control and did not differ from the fertilized one. The *Bradyrhizobium* genus has been reported by

(1,23 m), 25B6 (1,26 m), HG2 (1,23 m) y SP8 (1,24 m) no presentaron diferencias significativas con el control fertilizado (1,25 m), y fueron superiores a los inoculados con las cepas TE4 (1,16 m), SP12 (1,18 m), SP4 (1,19 m), JH2 (1,19 m), SP21 (1,18 m) y HA1 (1,12 m). De acuerdo con estos datos, se corrobora lo expresado por Dobbelaere *et al.* (2003) acerca de que los rizobios pueden estimular el crecimiento y el rendimiento de las plantas no pertenecientes a la familia de las leguminosas. Por otra parte, las características agroquímicas del área experimental (tabla 3), donde se evidenció una baja disponibilidad de fósforo y de materia orgánica, pudieron ocasionar que una gran parte del beneficio obtenido por la planta en los tratamientos inoculados se debiera a la solubilización de los fosfatos por los rizobios; esta propiedad, según Richardson (2001), es la forma de acción más común que influye en la promoción del crecimiento vegetal por las rizobacterias, al incrementar el aprovechamiento de los nutrientes por la planta hospedera.

En la variable longitud de la panoja (tabla 4), las cepas USDA 191 (22,0 cm), SP4 (22,2 cm), JH2 (22,6 cm), HA3 (23,8 cm), ATCC 10317 (23,0 cm), HA1 (23,6 cm) y SP15 (23,0 cm) mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) con relación al control absoluto (20,4 cm). De estas, HA3, ATCC 10317, HA1 y SP15 no difirieron del control fertilizado (24,2 cm). No se cuenta con patrones de comparación para esta variable, pero los autores del presente trabajo infieren que una de las causas puede ser la influencia de las hormonas producidas por los rizobios, ya que estos tratamientos inoculados presentaron valores estadísticamente superiores al control absoluto y no difirieron del fertilizado. El género *Bradyrhizobium* ha sido reportado por diversos autores (Costacurta y Vanderleyden, 1995; Patten y Glick, 1996; Minamisawa *et al.*, 1996) como productor de ácido indolacético. Todos los tratamientos inoculados y que presentaron superioridad estadística, excepto el de la cepa USDA 191 (*Sinorhizobium fredii*), pertenecen al género *Bradyrhizobium*, por lo que esta propiedad fisiológica pudo haber incidido también de forma positiva en los resultados.

several authors (Costacurta and Vanderleyden, 1995; Patten and Glick, 1996; Minamisawa *et al.*, 1996) as producer of indoleacetic acid. All the inoculated treatments and which showed statistical superiority, except that of the strain USDA 191 (*Sinorhizobium fredii*), belong to the *Bradyrhizobium* genus, for which this physiological property could have also had positive incidence on the results.

Regarding the ear dry weight, the treatment with the strain SP23 (4,20 kg) was statistically higher ($p < 0,001$) than the absolute control (1,50 kg) and the rest of the inoculated treatments, with the exception of HG2 (4,05 kg), JH1 (4,00 kg), 25B6 (3,70 kg) and the fertilized control (3,50 kg). In this agronomic variable the positive effect of most inoculated strains was also shown; the statistically higher values of the four above-mentioned strains, belonging to the *Bradyrhizobium* genus, must be emphasized.

The capacity of a significant number of strains to positively influence the agronomic variables of sorghum was proven, because there were inoculated treatments that statistically exceeded the values of the absolute control and equaled those of the fertilized control. The inoculation of sorghum with rhizobia is advisable, as a positive biofertilization alternative; although for the utilization of his crop as grain source for feeds, or for seed, other evaluations are required, aimed at measuring the effect of rhizobia on grain yield.

--End of the English version--

En cuanto al peso seco de la panoja, el tratamiento con la cepa SP23 (4,20 kg) fue estadísticamente superior ($p < 0,001$) al control absoluto (1,50 kg) y al resto de los tratamientos inoculados, con excepción de HG2 (4,05 kg), JH1 (4,00 kg), 25B6 (3,70 kg) y el control fertilizado (3,50 kg). En esta variable agronómica también se evidenció el efecto positivo de la mayor parte de las cepas inoculadas; es de destacar los valores estadísticamente superiores de las cuatro cepas anteriormente mencionadas, pertenecientes al género *Bradyrhizobium*.

Se demostró la capacidad de un número significativo de cepas, de influir positivamente en las variables agronómicas de sorgo, ya que hubo tratamientos inoculados que superaron estadísticamente los valores del control absoluto e igualaron los del control fertilizado. Es recomendable la inoculación de sorgo con rizobios, como una alternativa positiva de biofertilización; aunque para la utilización de este cultivo como fuente de grano para la confección de piensos, o para semilla, se requieren otras evaluaciones encaminadas a medir el efecto de los rizobios en el rendimiento de grano.

Referencias bibliográficas

- Anon. 1979. Clasificación genética de los suelos de Cuba. Academia de Ciencias de Cuba. Instituto de Suelos. La Habana, Cuba
- Anon. 1990. Norma Ramal. Pastos y forrajes millo forrajero (NRAG 348). Ministerio de la Agricultura. La Habana, Cuba. 4 p.
- Bhattarai, T. & Hess, D. 1993. Yield responses of Nepalese spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to inoculation with *Azospirillum* spp. of Nepalese origin. *Plant and Soil*. 151:67
- Bécquer, C.J. 2002. Caracterización y selección de rizobios adaptados a ecosistemas ganaderos de Sancti Spíritus, Cuba. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad de La Habana. Cuba. 140 p.
- Biswas, J.C. *et al.* 2000. Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Sci. Soc. of America J.* 64:1644
- Canet, R. *et al.* 2005. Situación actual y perspectiva de la producción de sorgo (*Sorghum bicolor* Moench) en Cuba. Memorias VI Taller Internacional sobre Recursos Fitogenéticos (FITOGEN'2005). Sancti Spíritus, Cuba. p. 166
- Chaviano, Mariela. 2005. El sorgo: contribución al desarrollo sostenible y ecológico de la producción popular de arroz. *Agricultura Orgánica*. 1:8
- Cocking, E.C. 2003. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. *Plant and Soil*. 252: 169
- Costacurta, A. & Vanderleyden, J. 1995. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. *Critical. Reviews Microbiol.* 21:1
- Dobbelaere, Sofie *et al.* 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 22:107
- Chi, F. *et al.* 2005. Ascending migration of endophytic rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and assessment of benefits to rice growth physiology. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:7271
- Hernández, A. *et al.* 1999. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. La Habana, Cuba. 64 p.
- Matiru, Vivienne & Dakora, F. 2004. Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. *African J. Biotechnol.* 3:1
- Mia, M.A.B. & Shamsuddin, Z.H. 2010. *Rhizobium* as a crop enhancer and biofertilizer for increased cereal production. *African Biotechnol.* 37:6001
- Minamisawa, K. *et al.* 1996. Indolepyruvate pathway for indole-3-acetic acid biosynthesis in *Bradyrhizobium elkanii*. *Plant Cell Physiol.* 37:449
- 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.
- Neves, Ma. Cristina & Rumjanek, Norma. 1997. Diversity and adaptability of Soybean and cowpea rhizobia in tropical soils. *Soil Biol. Biochem.* 29:889
- Patten, C.L. & Glick, B.R. 1996. Bacterial biosynthesis of indol-3-acetic acid. *Can. J. Microbiol.* 42:207
- Prévost, D. *et al.* 2000. Growth and mineral nutrition of corn inoculated with effective strains of *Bradyrhizobium japonicum*. Proceedings of the 5th International PGPR Workshop. Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. 7 p.
- Richardson, A.E. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Aust. J. Plant Physiol.* 28:897
- Sabry, S.R.S. *et al.* 1997. Endophytic establishment of *Azorhizobium caulinodans* in wheat. *Proc. R. Soc. Lond. Serie B*. 264:341
- Somasegaran, P. & Hoben, H.J. 1994. Handbook for rhizobia. Springer-Verlag. New York, USA. 450 p.
- Vincent, J.M. 1970. A manual for the practical study of root nodule bacteria. International Biological Programme Handbook No. 15. Blackwell Scientific Publications. Oxford, England. 164 p.

Recibido el 31 de mayo del 2011
Aceptado el 27 de septiembre de 2011