

---

ARTÍCULO CIENTÍFICO

---

Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium* sp.  
y *Trichoderma harzianum* en triticale (*X. Triticosecale* Wittmack),  
en condiciones de estrés por sequía

*Effect of the inoculation with Bradyrhizobium sp.  
and Trichoderma harzianum in Triticale (X. Triticosecale  
Wittmack), under drought stress conditions*

Carlos J. Bécquer-Granados<sup>1</sup>, Adelaida B. Puentes-Pérez<sup>2</sup>, Urbano Ávila-Cordoví<sup>1</sup>, Maribel Quintana-Sanz<sup>1</sup>, Yaldreisy Galdo-Rodríguez<sup>1</sup>, Fernando Medinilla-Nápoles<sup>3</sup> y Analeydi Mirabales-Valdés<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes,  
Estación Experimental Sancti Spiritus, Apdo. 2255, ZP 1, CP 62200, Sancti Spiritus, Cuba

<sup>2</sup>Universidad de Sancti Spiritus, Cuba

<sup>3</sup>Centro Meteorológico Provincial, Sancti Spiritus, Cuba

Correo electrónico: pastossp@enet.cu

---

**RESUMEN:** En la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spiritus, se llevó a cabo un experimento de campo en condiciones de estrés por sequía, para evaluar el efecto de la inoculación con una cepa de *Bradyrhizobium* sp. y con el hongo *Trichoderma harzianum*, en triticale (*X. Triticosecale* Wittmack). El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro réplicas y siete tratamientos. Se utilizó un testigo fertilizado con  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (150 kg N/ha), así como un control absoluto y cinco tratamientos inoculados. Se evaluaron las variables peso seco aéreo, peso seco de la raíz, longitud del tallo, rendimiento de grano, peso de mil semillas y número de granos por espiga. La aplicación simple de *Bradyrhizobium* o en combinación con *Trichoderma*, de forma general, ejerció un efecto positivo en las plantas, y resultó superior a la aplicación de fertilizante químico. Se observó, además, que el desarrollo de la parte aérea y el rendimiento de grano no estuvieron vinculados con la aplicación de nitrógeno mineral, sino con la inoculación. Se recomienda realizar experimentos similares en diferentes tipos de suelo en la provincia Sancti Spiritus, en condiciones de estrés por sequía.

Palabras clave: microorganismos, rendimiento, *Rhizobium*.

**ABSTRACT:** At the Pastures and Forages Research Station Sancti Spiritus, a field trial was conducted under drought stress conditions, to evaluate the effect of the inoculation with a strain of *Bradyrhizobium* sp. and the fungus *Trichoderma harzianum*, in triticale (*X. Triticosecale* Wittmack). The experimental design was completely randomized, with four replications and seven treatments. A control fertilized with  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (150 kg N/ha) was used, as a well as an absolute control and five inoculated treatments. The variables aerial dry weight, root dry weight, stem length, grain yield, weight of a thousand seeds and number of grains per ear were evaluated. The simple application of *Bradyrhizobium* or in combination with *Trichoderma*, in general, exerted a positive effect on the plants, and was higher than the application of chemical fertilizer. It was also observed, that the development of the aerial part and the grain yield were not related to the application of mineral nitrogen, but to the inoculation. It is recommended to conduct similar experiments on different soil types in the Sancti Spiritus province, under drought stress conditions.

Key words: microorganisms, yield, *Rhizobium*.

---

## INTRODUCCIÓN

Los microorganismos del suelo contribuyen con un amplio rango de servicios esenciales a la sostenibilidad de todos los ecosistemas. Ellos ac-

túan como los principales agentes impulsores del ciclo de nutrientes; regulan la dinámica de la materia orgánica del suelo, el secuestro de carbono y la emisión de gases de invernadero; modifican la

estructura física del suelo y el régimen de agua; y mejoran la eficiencia en la toma de nutrientes por las plantas (Singh *et al.*, 2011).

Es conocido que la inoculación de cereales con microorganismos promotores del crecimiento vegetal conlleva el crecimiento de la planta y de su rendimiento (Andrews *et al.*, 2003). Existen antecedentes del efecto positivo de los rizobios y otras rizobacterias en cereales pertenecientes al género *Triticum* (Bécquer *et al.*, 2012a; Bécquer *et al.*, 2012b; Bécquer *et al.*, 2012c).

Por otra parte, se conoce que el estrés hídrico limita el crecimiento y la productividad de los cultivos, especialmente en áreas áridas y semiáridas (Farooq *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2009). La sequía es considerada como uno de los mayores desastres naturales del mundo, el más frecuente y persistente, el de mayor efecto negativo para la producción agrícola, y también como la causante de impactos adversos reales sobre el medioambiente (World Meteorological Organization, 1994).

Existen diversas formas de combatir la sequía, y entre las más novedosas se encuentra la utilización de inoculantes microbianos (Tikhonovich y Provorov, 2011). Se conoce que el efecto positivo de los microorganismos del suelo no radica solo en su influencia en el crecimiento, ya que estos también constituyen un factor relevante en la tolerancia de las plantas al estrés abiótico, como el causado por la sequía. Entre esas rizobacterias, los rizobios ocupan un lugar importante (Uchiumi *et al.*, 2004; Stiens *et al.*, 2006).

Otro microorganismo que influye positivamente en el desarrollo de las plantas es el hongo filamentoso *Trichoderma* spp. Los mecanismos directos relacionados con su efecto protector incluyen la competencia, la antibiosis y el micoparasitismo (Howell, 1998). Estudios más recientes indican la inducción de mecanismos de defensa en las plantas por *Trichoderma*, así como su actividad promotora del crecimiento vegetal (Saber *et al.*, 2009; Shaban y El-Bramawy, 2011). Existen antecedentes del efecto positivo de *Trichoderma harzianum* en trigo, al combinarse con rizobios (Bécquer *et al.*, 2015).

Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inoculación de *Bradyrhizobium* y *Trichoderma* en triticale (*X. Triticosecale* Wittmack) variedad INCA TT-77, en diferentes momentos, y en condiciones de estrés por sequía agrícola.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Localización.** El experimento se realizó desde enero de 2014 hasta abril del propio año, en una parcela

experimental perteneciente a la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spiritus, situada a 21° 53' 00" de latitud norte y los 79° 21' 25 " de longitud oeste, y a una altura de 40 msnm.

## Procedencia de las cepas y su identificación

**Cepa de rizobio.** Se empleó la cepa JJ6, perteneciente al género *Bradyrhizobium* sp. (Bécquer *et al.*, 2002), la cual es un microsimbionte de *Centrosema virginianum* (leguminosa naturalizada de Sancti Spiritus, Cuba).

**Cepa de *Trichoderma*.** Se utilizó el producto TRICHOSAVE 34 (de LABIOFAM S. A.), compuesto por un sustrato de cáscara y cabecilla de arroz inoculado con micelios esporulados de *T. harzianum* A-34.

**Material vegetal.** Se evaluó el cereal triticale, procedente del INCA –Mayabeque, Cuba–. Este cereal tiene antecedentes de altos rendimientos en la provincia de Sancti Spiritus al inocularse con rizobios (Bécquer *et al.*, 2012b), y constituye una alternativa para la alimentación animal en Cuba.

## Preparación de los inóculos

***Bradyrhizobium.*** Las cepas crecieron en medio sólido levadura-manitol (Vincent, 1970), y se resuspendieron en medio líquido levadura-manitol hasta lograr una concentración celular de  $10^6$ - $10^8$  UFC/mL. Para la inoculación de las plantas, se procedió a diluir el inóculo en proporción 1:10 en solución salina al 0,9 %.

***Trichoderma.*** Al producto antes mencionado, por recomendación técnica del fabricante, se le añadió agua corriente a razón de 35 g/L, y se filtró con gasa antes de inocular las plantas.

## Inoculación de las plantas

**Con *Bradyrhizobium.*** La inoculación se realizó al germinar la semilla (a los 6 días); para ello se usó una bureta graduada, cuyo contenido se vertió sobre las plantas recién germinadas, y, al regular el surtidor, cada planta recibió aproximadamente 8-10 mL del inóculo líquido. La reinoculación se efectuó a los 15 días de la siembra, de igual forma, con un inóculo bacteriano del mismo título.

**Con *Trichoderma.*** Se realizó la inoculación al germinar la semilla (a los 6 días), con una dosis equivalente a 250 L/ha de solución, mediante igual procedimiento al usado para el *Bradyrhizobium*. La reinoculación de los tratamientos se efectuó a los 15 días de la siembra, con un inóculo del mismo título.

**Inoculación fraccionada.** A los 15 días de aplicado el inóculo inicial del microorganismo, de acuerdo al tratamiento, se realizó la inoculación fraccionada.

**Preparación del suelo, siembra, riego.** Se hicieron labores convencionales de cultivo: roturación, grada, cruce, recruse, grada y surcado. La siembra del experimento se realizó en la segunda decena de enero, a chorrillo espaciado y con una dosis de 60 kg/ha. El marco de siembra fue de 50 cm entre surcos. La semilla se cosechó de forma manual a los 105 días, en la tercera decena de abril. Cada parcela medía 2 m x 4 m.

Se aplicaron tres riegos, por aspersión: inmediatamente después de la siembra, al comienzo del macollamiento y cuando la hoja bandera era visible. Aunque la norma establecida por el INIFAT (2003) es de 350 m<sup>3</sup>/ha, en este experimento se aplicó el 30 % de esta, con el objetivo de favorecer solamente la supervivencia de los microorganismos rizosféricos.

**Variables climáticas en el área.** Los datos de temperatura, precipitación y humedad relativa fueron proporcionados por la Estación Meteorológica Sancti Spiritus, perteneciente al Centro Meteorológico Provincial.

**Precipitación.** La precipitación tuvo un comportamiento irregular. En noviembre de 2013 fue similar al valor histórico (54,9 mm), mientras que en diciembre (7,0 mm), enero (64,3 mm) y marzo (45,9 mm) resultó inferior. En estos dos últimos meses acontecieron importantes etapas fenológicas del cultivo experimental (desde la germinación hasta el llenado de los granos), que coincidieron con la menor ocurrencia de lluvias en ese período. Solamente se superaron los promedios históricos en febrero (67,7 mm) y abril (102,6 mm).

**Temperatura y humedad relativa.** El período se caracterizó por el predominio de altas temperatura y humedad relativa (tabla 1).

**Determinación del estado de sequía agrícola.** El estado de sequía agrícola se determinó a

través del Índice de Aridez o Índice de Sequía Agrícola (IE), con la fórmula propuesta por Solano y Vázquez (1999), para comprobar si el experimento se efectuaba en condiciones de estrés hídrico:

$$IE = ETR / ETP$$

Donde:

ETR (o E): evapotranspiración real estimada, dependiente del estado de humedad del suelo.

ETP (o Eo): evapotranspiración potencial estimada, dependiente de las condiciones atmosféricas.

Si  $ETR = ETP$ , el aprovisionamiento de agua al suelo es adecuado. Cuando  $ETR < ETP$ , hay insuficiencia de agua (en este caso, IE puede ser insuficiente, crítico o muy crítico).

El mes de enero en el área de estudio culminó con un IE de crítico a insuficiente, índice que varió en los meses de febrero y marzo hasta regular (Centro Meteorológico Provincial Sancti Spiritus, 2014).

**Composición agroquímica básica del suelo experimental.** El suelo del área experimental corresponde al tipo Pardo con diferenciación de carbonatos, arcilla de color pardo a pardo ligeramente oscuro, con reacción ligera al HCl; presenta algunas gravas en el horizonte A1, drenaje superficial e interno bueno, y es medianamente erosionable (Hernández *et al.*, 1999). Se caracteriza, además, por un contenido de macronutrientes bajo en fósforo y potasio (2,63 mg/100 g de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; 6,0 mg/100 g de K<sub>2</sub>O), así como 1,51 % de materia orgánica y pH de 5,9. Debido al pobre contenido de nutrientes en el suelo, se realizó una fertilización de fondo (N: 9, P: 13, K: 17) a los 21 días en todos los tratamientos, con dosis de 80 kg de N/ha.

#### Diseño experimental y análisis estadístico.

Se empleó un diseño experimental de bloques al azar, con siete tratamientos y tres réplicas: *Trichoderma* + *Bradyrhizobium* sp. a los 15 días (Trich. + JJ6 15d.), *Bradyrhizobium* sp. + *Trichoderma* a los 15 días (JJ6 + Trich.15d.), *Bradyrhizobium* sp. + *Trichoderma* en el momento de la siembra (JJ6 + Trich.), *Trichoderma*

Tabla 1. Datos de temperatura y humedad en el área experimental. Año 2014.

Mes	Temperatura media (°C)	Humedad relativa promedio (%)
Enero	22,2	76,2
Febrero	23,9	77,6
Marzo	24,1	71,0
Abril	25,3	71,7

en el momento de la siembra (Trich.), *Bradyrhizobium* sp. en el momento de la siembra (JJ6), control absoluto (CA) y testigo fertilizado (TF), el cual consistió en una aplicación de nitrógeno de 300 kg/ha ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ).

Los datos se procesaron estadísticamente, según el análisis de varianza (ANOVA) (StatGraphics Plus, v. 5.1, 1994-2001, Statistical Graphics Corporation). Las diferencias entre medias se determinaron por la prueba LSD (Least Significant Difference) de Fisher ( $p < 0,05$ ).

#### Variables que se midieron:

- Peso seco aéreo (PSA,  $\text{g/m}^2$ ).
- Peso seco de la raíz (PSR, g).
- Longitud del tallo (LT, cm).
- Rendimiento de grano (RG, kg/ha, extrapolado).
- Número de granos por espiga (No. G/esp.).
- Peso de mil semillas (P 1 000 sem., g).

Los datos de la variable con conteo de dígitos (número de granos por espiga) se transformaron por  $\sqrt{x}$  (Lerch, 1977).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se demostró el efecto positivo de la inoculación combinada de microorganismos benéficos en triticale, en condiciones de sequía agrícola, en una época del año con características complejas que perjudicaron el buen desarrollo de las plantas.

Con respecto a la variable peso seco aéreo, se observó que el tratamiento en que se combinaron la cepa de *Bradyrhizobium* y *Trichoderma* en el momento de la siembra (tabla 2) presentó valores estadísticamente superiores al resto de los tratamientos ( $613,67 \text{ g/m}^2$ ), e incluso al testigo fertilizado, lo cual indica que ambos microorganismos actuaron de forma sinérgica sobre este indicador productivo. Los

demás tratamientos, excepto *Trichoderma* ( $412,67 \text{ g/m}^2$ ) y el testigo fertilizado ( $440,67 \text{ g/m}^2$ ), tuvieron superíndices comunes con el control absoluto.

Dado el estrés por sequía al cual se sometió el cultivo, se deduce que *Bradyrhizobium*, al pertenecer al grupo de rizobacterias con propiedades de inducción de tolerancia sistémica al estrés ambiental, produjo citoquininas que contrarrestaron el efecto negativo del ácido abscísico en las hojas, respuesta propia de la planta ante este tipo de estrés (Yang *et al.*, 2009).

También Ahmad *et al.* (2008) encontraron que el 80 % de las bacterias fijadoras de dinitrógeno producen ácido indolacético. Esta sustancia del crecimiento conlleva el aumento de los fenoles totales, del contenido de calcio y de la actividad de la enzima polifenol oxidasa, que protege a la planta contra los patógenos y mejora su crecimiento mediante la eliminación de las especies reactivas al oxígeno, que se forman en la planta a partir de un estrés hídrico (Chowdhury, 2003; Yang *et al.*, 2009). En este sentido, Vanderlinde *et al.* (2010) plantearon que es probable que los rizobios produzcan antioxidantes (catalasa), exopolisacáridos y otras sustancias para poder sobrevivir en ambientes extremos, sobre todo en sequía. Al respecto, se conoce que cepas de *Rhizobium sultae*, aisladas en la región semiárida de Túnez y moderadamente tolerantes a la sequía, incrementaron de forma significativa la biomasa aérea seca de plantas inoculadas en este tipo de estrés ambiental (Fitouri *et al.*, 2012).

La cepa JJ6 que se utilizó en el presente experimento fue seleccionada anteriormente por su efecto positivo en triticale (Bécquer *et al.*, 2006) y en *Zea mays* (Bécquer *et al.*, 2008).

También la aplicación simple de *Trichoderma* ejerció un efecto positivo en el peso seco aéreo, a pesar de que los valores de este tratamiento fueron

Tabla 2. Comportamiento de triticale con las diferentes combinaciones de microorganismos

Tratamiento	Variable		
	PSA ( $\text{g/m}^2$ )	PSR (g)	LT (cm)
Trich. + JJ6 15d.	287,33 <sup>c</sup>	8,60 <sup>b</sup>	49,42 <sup>b</sup>
JJ6 + Trich. 15d.	222,63 <sup>c</sup>	9,07 <sup>b</sup>	48,75 <sup>b</sup>
JJ6 + Trich.	613,67 <sup>a</sup>	11,0 <sup>a</sup>	55,16 <sup>ab</sup>
Trich.	412,67 <sup>b</sup>	7,47 <sup>c</sup>	41,50 <sup>c</sup>
JJ6	284,60 <sup>c</sup>	10,2 <sup>ab</sup>	59,00 <sup>a</sup>
CA	250,43 <sup>c</sup>	5,07 <sup>c</sup>	39,37 <sup>c</sup>
TF	440,67 <sup>b</sup>	9,07 <sup>ab</sup>	53,77 <sup>ab</sup>
ES $\pm$	22,13	1,06	2,50

a, b, c: valores con superíndices no comunes difieren a  $p < 0,05$ .

Tabla 3. Comportamiento de triticale con las diferentes combinaciones de microorganismos

Tratamiento	Variable			
	RG, kg/ha (dato extrapolado)	Peso de mil semillas (g)	No. G/esp.	
			Dato transformado $\sqrt{x}$	Dato original
Trich + JJ6 15d.	380,0 <sup>c</sup>	21,50 <sup>d</sup>	5,83 <sup>b</sup>	34
JJ6 + Trich. 15d.	404,0 <sup>c</sup>	23,33 <sup>cd</sup>	5,88 <sup>b</sup>	35
JJ6 + Trich.	815,3 <sup>a</sup>	31,33 <sup>ab</sup>	7,07 <sup>a</sup>	50
Trich.	427,0 <sup>c</sup>	25,67 <sup>c</sup>	6,72 <sup>a</sup>	45
JJ6	815,3 <sup>a</sup>	30,33 <sup>b</sup>	6,91 <sup>a</sup>	48
CA	376,3 <sup>c</sup>	24,50 <sup>cd</sup>	4,81 <sup>c</sup>	23
TF	558,0 <sup>b</sup>	34,00 <sup>a</sup>	6,5 <sup>ab</sup>	42
ES±	3,38843	1,03126	0,28566	

a, b, c, d: valores con superíndices no comunes difieren a  $p < 0,05$ .

inferiores al que se alcanzó con la combinación del hongo con *Bradyrhizobium*. Harman *et al.* (2004) plantearon que la producción de ácidos orgánicos por parte de *Trichoderma* favorece la solubilización de los fosfatos, los micronutrientes y los cationes minerales, como el hierro, el manganeso y el magnesio.

En cuanto al peso seco de la raíz (tabla 2), los tratamientos JJ6 + Trich. (11,0 g) y JJ6 (10,2 g) igualaron estadísticamente al testigo fertilizado, mientras que JJ6 + Trich. superó al control absoluto, a *Trichoderma*, a JJ6 + Trich. 15d. y a Trich + JJ6 15d. La aplicación simple de *Trichoderma* produjo el menor valor (7,47 g), con superíndices iguales al control absoluto.

Es evidente que la combinación de la cepa de *Bradyrhizobium* con la de *Trichoderma* no generó antagonismo entre estos dos microorganismos, ya que el tratamiento donde se combinaron, así como la aplicación simple de *Bradyrhizobium* sp., ejercieron un efecto positivo en el desarrollo radical. Es posible que *Trichoderma*, al utilizar sus mecanismos de degradación celulolítica en las raíces del hospedero (Haram *et al.*, 1996), haya permitido la entrada a las bacterias que se inoculaban conjuntamente. En relación con este tema, Yanni *et al.* (2001), Perrine *et al.* (2004) y Saritha Kumari *et al.* (2009) sostienen que las moléculas promotoras del crecimiento, como el ácido indolacético, las gibberelinas y las citoquininas producidas por los rizobios presentes, ya sea en la rizosfera o en los tejidos de las plantas, estimulan el mayor desarrollo radical e incrementan la capacidad de absorción de nutrientes en beneficio de la planta.

En la longitud del tallo (tabla 2) se halló superioridad estadística de JJ6 (59,00 cm) con respecto

al control absoluto, a Trich + JJ6 15d., a JJ6 + Trich. 15d. y a *Trichoderma*; aunque el primero no difirió de JJ6 + Trich. (55,16 cm) ni del testigo fertilizado. En esta variable, al igual que en la anterior, la inoculación simple de *Bradyrhizobium*, así como la inoculación combinada de la bacteria con *Trichoderma* en el momento de la siembra, tuvo un efecto superior al del control absoluto, al de otros tratamientos fraccionados que se aplicaron, y al de la inoculación simple de *Trichoderma*.

En sentido general, se demostró que las tres variables estudiadas aumentaron sus valores al someterse a los tratamientos de aplicación simple de *Bradyrhizobium* y su combinación con *Trichoderma*, por lo que la producción de fitohormonas por parte del rizobio incidió en el sistema radical, y también a través de este pudo influir positivamente en las variables de desarrollo de la parte aérea, como el peso seco y la longitud del tallo. Yanni *et al.* (2001) y Rosenblueth y Martínez-Romero (2006) consideraron que los rizobios y otros microorganismos pueden penetrar las raíces de las especies no leguminosas a través de las grietas, o por los puntos de aparición lateral de la raíz, y establecerse en el xilema y en los espacios intercelulares de las plantas; por lo que el radio de acción de los metabolitos emitidos por las bacterias puede llegar lejos del sistema radical.

De todas las variables que se evaluaron en este experimento, el rendimiento de grano, el peso de mil semillas y el número de granos por espiga mostraron el resultado final de todos los procesos que ocurren en la planta, y en general, en el sistema suelo-microorganismo-planta.



En cuanto al rendimiento de grano (tabla 3), los tratamientos JJ6 + Trich. (815,3 kg/ha) y JJ6 (815,3 kg/ha) fueron estadísticamente superiores al resto, e incluso al testigo fertilizado.

Saleem *et al.* (2007) y Van Loon (2007) informaron que muchas rizobacterias contienen la enzima 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC) diaminasa, la cual escinde al precursor del ACC, el etileno, en  $\alpha$ -cetobutirato y amonio, y reduce los niveles de etileno en las plantas sometidas a estrés. Esto permite que el sistema radical pueda desarrollarse sin la inhibición propia de dicho compuesto, lo cual propicia una mayor absorción de nutrientes por la planta y una mayor producción de granos.

La inoculación del cultivo no propició un alto rendimiento de grano (entre 380,0 y 815,0 kg/ha), pero resultó interesante que el tratamiento con aplicación de 300 kg de N/ha no superara a JJ6 + Trich. ni a JJ6. Ello indica que estos ejercieron un efecto positivo en la planta a pesar del estrés por sequía, y que constituyen una mejor opción que la aplicación de fertilizante químico en estas condiciones. Por otra parte, el rendimiento del testigo fertilizado fue inferior al obtenido por Baset Mia y Shamsuddin (2010) y Bécquer *et al.* (2012b) en condiciones climáticas más favorables.

En el peso de mil semillas (tabla 3), JJ6 + Trich. (31,33 g) presentó superíndices comunes con el testigo fertilizado y fue superior al resto de los tratamientos, con excepción de JJ6. En esta variable, el tratamiento simple con *Bradyrhizobium* resultó significativamente menor al testigo fertilizado, pero superior al control absoluto y a uno de los tratamientos de inoculación fraccionada. Ello mostró que la calidad del grano también fue influida por la acción de estas variantes de biofertilización, a través de los mecanismos de absorción de nutrientes y la acción estimuladora sobre la raíz, por parte de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Saritha Kumari *et al.*, 2009); así como a través de la presencia de bacterias rizosféricas en diferentes partes de la planta, con su consiguiente efecto positivo en esta (Yanni *et al.*, 2001; Rosenblueth y Martínez-Romero, 2006).

En el número de granos por espiga (tabla 3) hubo tres tratamientos que no difirieron del testigo fertilizado: JJ6 + Trich. (7,07 g), *Trichoderma* (6,72 g) y JJ6 (6,91 g), y que resultaron ser estadísticamente superiores al control absoluto, a Trich + JJ6 15d. y a JJ6 + Trich. 15d. Al igual que en el peso seco aéreo, se observó el efecto positivo de *Trichoderma* en esta variable.

Avis *et al.* (2008) y Shores *et al.* (2010) reportaron las propiedades biofertilizantes de *Trichoderma*, basado en el incremento de la absorción de minerales y su solubilización, así como en la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal. Estos últimos autores aseguran que la referida capacidad de *Trichoderma* y de otros microorganismos biocontroladores es una consecuencia de sus habilidades de reprogramar la expresión genética de las plantas, probablemente a través de la activación de un limitado número de vías metabólicas. Mogle y Mane (2010) aseguraron que en semillas de tomate tratadas con una mezcla de *Trichoderma* y *Rhizobium* se redujo la incidencia de hongos patógenos y se incrementó la germinación. La cepa de *Trichoderma* que se inoculó en este experimento fue utilizada previamente en *Vigna luteola*, y su combinación con una cepa de *Bradyrhizobium* sp. también mostró un efecto positivo (Bécquer *et al.*, 2004).

El hecho de que la aplicación simple de *Trichoderma* haya tenido un efecto positivo en el peso seco aéreo y el número de granos por espiga confirma en cierto grado las propiedades estimuladoras del crecimiento vegetal de este hongo, las que pudieran utilizarse en la práctica agrícola, previa comprobación en futuros experimentos con otros cultivos y en diferentes ambientes edafoclimáticos.

Se concluye que la aplicación de *Bradyrhizobium* de forma simple, o en combinación con *Trichoderma*, ejerció mejor efecto en las plantas que la aplicación de fertilizante químico. Se observó, además, que el desarrollo de la parte aérea y el rendimiento de grano no estuvieron vinculados con la aplicación de nitrógeno mineral, sino con la inoculación.

Se recomienda realizar experimentos similares en diferentes tipos de suelo en condiciones de estrés por sequía, en la provincia Sancti Spiritus.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad, F.; Ahmad, I. & Khan, M. S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol. Res.* 163 (2):173-181, 2008.
- Andrews, M.; James, E. K.; Cummings, S. P.; Zavalin, A. A.; Vinogradova, L. V. & McKenzie, B. A. Use of nitrogen fixing bacteria inoculants as a substitute for nitrogen fertilizer for dry land graminaceous crops: progress made mechanisms of action and future potential. *Symbiosis.* 35 (1):209-229, 2003.
- Avis, T. J.; Gravel, Valérie; Antoun, Hani & Tweddell, R. J. Multifaceted beneficial effects of rhizos-

- phere microorganisms on plant health and productivity. *Soil Biol. Biochem.* 40 (7):1733-1740, 2008.
- Baset Mia, M. A. & Shamsuddin, Z. H. Rhizobium as a crop enhancer and biofertilizer for increased cereal production. *Afr. J. Biotechnol.* 9 (37):6001-6009, 2010.
- Bécquer, C. J.; Lazarovits, G.; Nielsen, Laura; Quintana, Maribel; Adesina, Modupe; Quigley, Laura *et al.* Efecto de la inoculación con bacterias rizosféricas en dos variedades de trigo. Fase II: invernadero. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 3 (5):985-997, 2012a.
- Bécquer, C. J.; Lazarovits, G.; Nielsen, Laura; Quintana, Maribel; Adesina, Modupe; Quigley, Laura *et al.* Efecto de la inoculación con bacterias rizosféricas y *Trichoderma* en trigo (*Triticum aestivum* L.). *Pastos y Forrajes.* 38 (1):29-37, 2015.
- Bécquer, C. J.; Nápoles, J. A.; Álvarez, Orquidia; Ramos, Yamilka; Quintana, Maribel & Galdo, Yaldreisy. Respuesta de diferentes variedades de cereales a la inoculación con *Bradyrhizobium* sp. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 3 (1):187-200, 2012b.
- Bécquer, C. J.; Prévost, Danielle; Cloutier, J. & Laguerre, Gisele. Enfoque taxonómico de rizobios aislados de leguminosas forrajeras. *Rev. Biología.* 16:137-145, 2002.
- Bécquer, C. J.; Prévost, Danielle; Juge, Christine; Gauvin, Carole & Delaney, Sandra. Efecto de la inoculación con bacterias rizosféricas en dos variedades de trigo. Fase I: condiciones controladas. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 3 (5):973-984, 2012c.
- Bécquer, C. J.; Ramos, Yamilka; Nápoles, J. A. & Arioza, María D. . Efecto de la interacción *Trichoderma*-rizobio en *Vigna luteola*, SC123. *Pastos y Forrajes.* 27 (2):139-145, 2004.
- Bécquer, C. J.; Salas, Beatriz; Archambault, D.; Slaski, J. & Anyia, A. Inoculación de trigo (*Triticum aestivum*, L.) con rizobios adaptados a ecosistemas ganaderos de Sancti Spiritus, Cuba. *Pastos y Forrajes.* 29 (3):255-265, 2006.
- Bécquer, C. J.; Salas, Beatriz; Ávila, U.; Palmero, L.; Nápoles, J. A. & Ulloa, Lisbet. Selección de cepas de rizobios aisladas de ecosistemas ganaderos de Cuba, inoculadas en trigo (*Triticum aestivum* L.). *Pastos y Forrajes.* 31 (1):63-72, 2008.
- Centro Meteorológico Provincial. *Resumen climático y estado de la sequía en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes de Sancti Spiritus. Período noviembre 2013-mayo 2014.* Sancti Spiritus, Cuba, 2014.
- Chowdhury, A. K. Control of Sclerotium blight of groundnut by growth substances. *Crop Res.* 25:355-359, 2003.
- Farooq, M.; Wahid, A.; Kobayashi, N.; Fujita, D. & Basra, S. M. A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sust. Dev.* 29:185-212, 2009.
- Fitouri, S. D.; Trabelsi, D.; Saïdi, S.; Zribi, K.; Jeddi, F. B. & Mhamdi, R. Diversity of rhizobia nodulating Sulla (*Hedysarum coronarium* L.) and selection of inoculant strains for semi-arid Tunisia. *Ann. Microbiol.* 62 (1):77-84, 2012.
- Haram, S.; Schickler, H. & Chet, I. Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology.* 142 (9):2321-2331, 1996.
- Harman, G. E.; Howell, C. R.; Viterbo, Ada; Chet, I. & Lorito, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 2 (1):43-56, 2004.
- Hernández, A.; Pérez, J. M.; Bosch, D. & Rivero, L. *Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba.* La Habana: AGRINFOR, 1999.
- Howell, C. R. The role of antibiosis in biocontrol. In: G. E. Harman and C. P. Kubicek, eds. *Trichoderma and Gliocladium, Enzymes, biological control and commercial applications.* vol. 2. London: Taylor & Francis. p. 173-184, 1998.
- INIFAT. *Normas técnicas para el cultivo del trigo.* La Habana, 2003.
- Lerch, G. *La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas.* La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1977.
- Mogle, U. P. & Mane, R. Y. Antagonistic effect of biofertilizers against seed born mycoflora of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Res. J. Agric. Sci.* 1:255-258, 2010.
- Perrine, Francine M.; Rolfe, B. G.; Hynes, M. F. & Hocart, C. H. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of indoleacetic acid and tryptophan following aqueous chloroformate derivatisation of Rhizobium exudates. *Plant Physiol. Bioch.* 42 (9):723-729, 2004.
- Rosenblueth, Mónica & Martínez-Romero, Esperanza. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Mol. Plant Microbe In.* 19 (8):827-837, 2006.
- Saber, W. I. A.; Abd El-Hai, K. M. & Ghoneem, K. M. Synergistic effect of *Trichoderma* and Rhizobium on both biocontrol of chocolate spot disease and induction of nodulation, physiological activities and productivity of *Vicia faba*. *Res. J. Microbiol.* 4 (8):286-300, 2009.
- Saleem, M.; Arshad, M.; Hussain, S. & Bhatti, A. S. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 34 (10):635-648, 2007.
- Saritha Kumari, B.; Raghu Ram, M. & Mallaiiah, K. V. Studies on exopolysaccharide and indole acetic acid production by Rhizobium strains from Indigofera. *Afr. J. Microbiol. Res.* 3 (1):10-14, 2009.

- Shaban, W. I. & El-Bramawy, M. A. Impact of dual inoculation with *Rhizobium* and *Trichoderma* on damping off, root rot diseases and plant growth parameters of some legumes field crop under greenhouse conditions. *Int. Res. J. Agric. Sci. Soil Sci.* 1 (3):98-108, 2011.
- Shoresh, M.; Harman, G. E. & Mastouri, Fatemeh. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48:21-43, 2010.
- Singh, J. S.; Pandey, V. C. & Singh, D. P. Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. *Agr. Ecosyst. Environ.* 140 (3-4):339-353, 2011.
- Solano, O. & Vázquez, R. Modelo agrometeorológico de evaluación de la sequía agrícola. *Convención Trópico'99. Congreso de Meteorología Tropical.* La Habana, 1999.
- Stiens, M.; Schneiker, S.; Keller, M.; Kuhn, S.; Pühler, A. & Schlüter, A. Sequence analysis of the 144-kilobase accessory plasmid psmesml1a, isolated from a dominant *Sinorhizobium meliloti* strain identified during a long-term field release experiment. *Appl. Environ. Microbiol.* 72 (5):3662-3672, 2006.
- Tikhonovich, I. A. & Provorov, N. A. Microbiology is the basis of sustainable agriculture: an opinion. *Ann. Appl. Biol.* 159 (2):155-168, 2011.
- Uchiumi, T.; Ohwada, T.; Itakura, M.; Mitsui, H.; Nukui, N.; Dawadi, P. *et al.* Expression islands clustered on symbiosis island of *Mesorhizobium loti* genome. *J. Bacteriol.* 186 (8):2439-2448, 2004.
- Vanderlinde, Elizabeth M.; Harrison, J. J.; Muszyński, A.; Carlson, R. W.; Turner, R. J. & Yost, C. K. Identification of a novel ABC transporter required for desiccation tolerance, and biofilm formation in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 3841. *FEMS Microbiol. Ecol.* 71 (3):327-340, 2010.
- Van Loon, L. C. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119 (3):243-254, 2007.
- Vincent, J. M. A manual for the practical study of root nodules bacteria. *International Programme Handbook.* No. 15. Oxford, Edinburgh: Blackwell Scientific Publications. p. 164, 1970.
- World Meteorological Organization. *A decadal against natural disasters.* WMO No. 799, 1994.
- Yang, J.; Kloepper, J. W. & Ryu, Choong-Min. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.* 14 (1):1-4, 2009.
- Yanni, Y.; Rizk, R.; Fattah, F. K. & Squartine, A. The beneficial plant growth-promoting association of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* with rice root. *Aust. J. Plant Physiol.* 28 (9):845-870, 2001.

Recibido el 21 de enero de 2015

Aceptado el 20 de octubre de 2015