

Respuesta de diferentes variedades de cereales a la inoculación con *Bradyrhizobium* sp.*

Response of different varieties of cereals to inoculation with *Bradyrhizobium* sp.

Carlos José Bécquer Granados^{1§}, José Ángel Nápoles Gómez, Orquidea Álvarez¹, Yamilka Ramos¹, Maribel Quintana¹ y Yaldreisi Galdo¹

¹Ministerio de Agricultura de Cuba. Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes. Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spiritus. Sancti Spiritus, Cuba. Apdo. 2255. Zona Postal 1., C. P. 60100. [§]Autor para correspondencia: pastossp@yayabo.inf.cu.

Resumen

Se llevaron a cabo dos experimentos de campo durante 2009, en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spiritus, Cuba (21° 53' 00" latitud norte, 79° 21' 25" longitud oeste y 40 msnm), para determinar la respuesta de diferentes variedades de cereales a la biofertilización con *Bradyrhizobium* sp. La preparación de los inóculos y la inoculación de las semillas, se efectuaron según metodologías prestablecidas para este campo de estudio. El diseño experimental fue a través de parcelas divididas y 4 réplicas por tratamiento. Al control fertilizado se le aplicó nitrógeno (150 kg N ha⁻¹) y se evaluaron diferentes variables agronómicas. Se aplicó análisis de varianza bifactorial; las diferencias entre medias se determinaron por la dócima de comparación de Duncan y t-student. En el experimento con *Triticum* se concluye que los tratamientos con mejores respuestas, fueron Triticale-inoculado y a IRM37-inoculado y que *Triticum secale* superó en peso seco raíz y en longitud del tallo a *T. aestivum*, lo que hace a esta primera especie promisoría para condiciones de sequía. En el experimento con *Zea mays* se concluye que aunque en peso seco aéreo los mejores tratamientos correspondieron a la fertilización química, en peso seco de la mazorca el tratamiento Canilla-inoculado, presentó

Abstract

Two field experiments were performed in 2009 at the Experimental Station of Pastures and Forages Sancti Spiritus, Cuba (21° 53' 00" north, 79° 21' 25" west longitude and 40 m) to determine the response of different varieties of cereals to bio-fertilization with *Bradyrhizobium* sp. The preparations of inocula and seed inoculation were made according to preset methodologies for this field of study. The experimental design was through split-plots and 4 replicates per treatment. The fertilized control was applied with nitrogen (150 kg N ha⁻¹) and agronomic variables were evaluated. We applied two-factor analysis of variance; the differences between means were determined by Duncan and t-student comparison. In the experiment with *Triticum*, we concluded that, the treatment with the best responses was Triticale-inoculated and IRM37-inoculated and that, *Triticum secale* exceeded on root dry weight and stem length compared with *T. aestivum*, which makes this first promising species for drought conditions. In the experiment with *Zea mays* is concluded that, even though air dry weight treatments were best with chemical fertilization, in dry weight of the ear Canilla-inoculated treatment showed statistically equal to that of the fertilized treatments, so it's considered

* Recibido: agosto de 2011
Aceptado: diciembre de 2011

valores estadísticamente iguales al de los tratamientos fertilizados, por lo que se considera positiva la respuesta de esta variedad a la biofertilización. No obstante, no se descarta la influencia de las bacterias rizosféricas autóctonas en algunas de las variables estudiadas.

Palabras claves: *Triticum*, *Zea mays*, biofertilización, variedades.

Introducción

Las bacterias rizosféricas promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), representan una amplia variedad de bacterias del suelo, las cuales al crecer en asociación con las plantas hospederas, provocan la estimulación del crecimiento de dichas plantas (Kevin, 2003). Sin embargo, el efecto positivo de las bacterias rizosféricas, entre ellas los rizobios, en plantas no pertenecientes a la familia de las leguminosas como las gramíneas, es un hecho científico demostrado por diferentes autores (Biswas *et al.*, 2000; Hilali *et al.*, 2001; Antoun y Prévost, 2005; Anya *et al.*, 2009). Por otra parte, se ha demostrado por Prévost *et al.* (2000), que la inoculación de maíz con rizobios, ejerce un efecto positivo en los parámetros fisiológicos del vegetal.

Otros estudios en este tema han señalado 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 existentes (Bhattarai y Hess, 1993). Según estos últimos autores, además de Neves y Rumjanek (1997), las cepas procedentes de ecosistemas locales pueden ser seleccionadas para la inoculación de los cultivos, ya que las mismas están adaptadas al ambiente y pueden ser más competitivas que las cepas importadas.

El trigo (*Triticum aestivum*, L.) constituye un cereal importante desde el punto de vista alimenticio. Es muy eficiente en el uso del agua y se adapta a los lugares fríos y también a los moderadamente calientes. En Cuba se obtuvo la primera variedad nacional en el año 1956 y posteriormente, en el Instituto de Investigaciones Fundamentales de Agricultura Tropical (INIFAT), se obtuvieron siete variedades resistentes a las condiciones edafoclimáticas del país. El triticale (*T. secale*), aunque se encuentra aún bajo estudio en el Instituto de Investigaciones

a positive response of this variety to bio-fertilization. However, the influence of indigenous rhizosphere bacteria in some of the studied variables is not ruled out.

Key words: *Triticum*, *Zea mays*, bio-fertilization, varieties.

Introduction

Plant growth promoting rhizospheric bacteria (PGPR) represent a wide variety of soil bacteria, which grow in association with the host plants, causing stimulation of growth of these plants (Kevin, 2003). However, the positive effect of rhizosphere bacteria, including rhizobia, plants outside the legume family such as grasses is a scientific fact proven by different authors (Biswas *et al.*, 2000; Hilali *et al.*, 2001; Antoun and Prévost, 2005; Anya *et al.*, 2009). Moreover, it has been demonstrated by Prévost *et al.* (2000), that inoculation of maize with rhizobia exerts a positive effect on the plant's physiological parameters.

Other studies in this area have indicated that, the response of cereals to bacterial inoculation depends on the genotype of the plant (Murty and Ladha, 1988), the strain of bacteria used and the type of soil (Baldani *et al.*, 1987) as well as the existing environmental conditions (Bhattarai and Hess, 1993). According to these authors, as well as Rumjanek Neves (1997), the strains from local ecosystems can be selected for the inoculation of crops, since they are adapted to the environment and can be more competitive than imported strains.

Wheat (*Triticum aestivum*, L.) constitutes an important cereal from the nutritional standpoint. Is quite efficient in the use of water and adapts to the cold places and also to moderately hot. In Cuba won the first national variety in 1956 and subsequently at the Institute of Fundamental Research for Tropical Agriculture (INIFAT) gave seven varieties resistant to soil and climatic conditions of the country. The triticale (*T. secale*), even though is still under study at the Research Institute of Agricultural Sciences (INCA) has shown very promising agronomic results of assessments so far, especially in adapting to environmental conditions in Cuba (Plana, Rodolfo. Com. Pers); so that the study of biological factors with potential to increasing the productivity of both species is a task of great importance for the sustainable development of agriculture in Cuba.

de Ciencias Agrícolas (INCA), ha mostrado resultados agronómicos muy promisorios en las evaluaciones efectuadas hasta el momento, sobre todo en su adaptación a las condiciones ambientales de Cuba (Plana, Rodolfo. Com. Pers.), por lo que el estudio de los factores biológicos con potencial suficiente para aumentar la productividad de ambas especies, es una tarea de gran importancia para el desarrollo sostenible de la agricultura en Cuba.

El maíz (*Zea mays* L. Moench) es un cereal de consumo mundial, el cual si se cultiva bajo el sistema de producción intensivo, causa pérdida de fertilidad del suelo y contamina el agua superficial y los acuíferos por el exceso de fertilizante nitrogenado aplicado y no absorbido por la planta. Una alternativa para minimizar este problema son las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, las cuales realizan sus funciones de diversas formas (Plata-Guzmán *et al.*, 1997). Por lo tanto, el objetivo general de esta investigación se centró en evaluar la respuesta de diferentes variedades de *Triticum* y *Zea mays*, a la aplicación de fertilizante químico y de inoculante a base de *Bradyrhizobium* sp.

Materiales y métodos

Procedencia de las cepas y su identificación

Se evaluó la cepa HG₂, ubicada taxonómicamente en el género *Bradyrhizobium* sp. (esta cepa se aisló previamente de *Centrosema plumieri*, de la zona centro de Sancti Spiritus, Cuba) (Bécquer, 2002); así como SP₆, perteneciente al género *Bradyrhizobium* sp. (esta cepa se aisló previamente de *Stylosanthes viscosa*, de la zona sur de Sancti Spiritus, Cuba) (Bécquer, 2002). Ambas se seleccionaron anteriormente en experimentos de trigo y maíz bajo condiciones de campo (Bécquer *et al.*, 2008).

Variedades de plantas utilizadas

Se utilizaron semillas de las variedades IRM-32 e IRM-37 (*Triticum aestivum*, procedentes del INIFAT, Cuba) y la variedad Triticale (*T. secale*, procedente del INCA, Cuba). Estas variedades se inocularon con la cepa HG₂ (*Bradyrhizobium* sp.). Las variedades Canilla y VST-6 (*Zea mays*), procedían del Banco de Semillas de la Estación Experimental Sancti Spiritus y se inocularon con la cepa SP₆ (*Bradyrhizobium* sp.).

Maize (*Zea mays* L. Moench) is a cereal of global consumption, which if grown under intensive production system, may cause loss of soil fertility and contaminates surface and ground water by excess fertilizer applied and not absorbed by the plant. An alternative to minimize this problem is the plant growth promoting rhizobacteria, which perform their functions in various ways (Silver-Guzmán *et al.*, 1997). Therefore, the overall objective of this research was focused on evaluating the response of different varieties of *Triticum* and *Zea mays* to the application of chemical fertilizer and inoculant based on *Bradyrhizobium* sp.

Materials and methods

Strains origin and identification

We evaluated the strain HG₂, located taxonomically in the genus *Bradyrhizobium* sp. (This strain was isolated previously from *Centrosema plumieri*, in the center of Sancti Spiritus, Cuba) (Becquer, 2002), and SP₆, belonging to the genus *Bradyrhizobium* sp. (This strain was isolated previously from *Stylosanthes viscosa*, in the south of Sancti Spiritus, Cuba) (Bécquer, 2002). Both experiments were selected earlier in wheat and corn in field conditions (Becquer *et al.*, 2008).

Varieties of plants used

Seeds of varieties IRM-32 and IRM-37 (*Triticum aestivum*, from the INIFAT, Cuba) and the variety Triticale (*T. secale*, from the INCA, Cuba). These varieties were inoculated with strain HG₂ (*Bradyrhizobium* sp.). Canilla and VST-6 varieties (*Zea mays*) originated from the Seed Bank Experimental Station Sancti Spiritus and inoculated with strain SP₆ (*Bradyrhizobium* sp.).

Weather conditions during the experimental period

The Table 1 shows the weather data during the experimental period, showing the almost total absence of rain during March (1.8 mm), due to which we proceeded to water the experiment on three occasions during that month in order to avoid that water stress that would affect the growth of the plants, not to be included this factor in the experimental design.

Condiciones climatológicas durante el periodo experimental

El Cuadro 1 muestra los datos climáticos durante el período experimental, donde se observa la ausencia casi total de lluvia en el mes de marzo (1.8 mm), debido a lo cual se procedió a regar el experimento en tres ocasiones durante ese mes, para evitar que el estrés hídrico afectara el desarrollo de las plantas, por no estar incluido este factor en el diseño experimental utilizado.

Composición agroquímica básica del suelo experimental

El suelo del área experimental correspondió al tipo Aluvial (Anon, 1979), deficitario en P_2O_5 (2.63 mg 100 g) y materia orgánica (1.61%) (Cuadro 2), lo cual está acorde a lo reportado por Hernández *et al.* (1999) para este tipo de suelo.

Cuadro 1. Comportamiento de las variables climáticas durante el período experimental.

Table 1. Behavior of weather variables during the experimental period.

Mes	Tmedia (°C)	Tmín promedio (°C)	Tmáx promedio (°C)	Humedad relativa media (%)	Lluvia total mes (mm)	Días con lluvia
Enero	23.2	19.2	28.2	70	1.8	3
Febrero	20.7	15.2	27.3	71	57	4
Marzo	22	16.3	28.8	69	1.8	3
Abril	25	20	31.6	70	20.5	4
Mayo	25.7	21	32.2	74	60.6	10

Cuadro 2. Composición agroquímica básica del suelo experimental.

Table 2. Basic agrochemical composition of the experimental soil.

Tipo de suelo	P_2O_5 (mg/100 g) (Oniani)	K_2O (mg/100 g) (Oniani)	Materia orgánica (%) (Walkley-Back)	pH (Cl K) (Potenciometría)
Aluvial (Anon, 1979)	2.63	10	1.61	5.4

Preparación de los inóculos

Las cepas crecieron sobre medio sólido Levadura-Manitol (Vincent, 1970) y se resuspendieron en medio líquido Levadura-Manitol, hasta lograr una concentración de células viables de 8×10^{10} UFC mL⁻¹. 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 de inóculo total.

Basic agrochemical composition of the experimental soil

The soil of the experimental area had a type Alluvial (Anon, 1979), deficient in P_2O_5 (2.63 mg 100 g) and organic matter (1.61%) (Table 2), which is consistent with that reported by Hernández *et al.* (1999) for this soil type.

Inocula preparation

The strains grew on solid medium Yeast-Mannitol (Vincent, 1970) and were re-suspended in Yeast-Mannitol liquid medium to achieve a concentration of viable cells of 8×10^{10} CFU mL⁻¹. This maximum concentration of cells was reached in order to ensure adequate bacterial population at planting. Thereafter, the inoculum was added based on an isotonic solution of distilled water with 0.9% NaCl, in a ratio of 1:10 up to 12 L of inoculum total.

Plants inoculation

The inoculation was performed after the seed was covered with a hand spray pump which was directed to the groove. This was carried out in the fresh hours of the morning. Re-inoculation treatments were performed 20 days after sowing, with an inoculum containing freshly brewed 10^8 CFU mL⁻¹, approximate minimum concentration recommended for inoculant rhizobia based liquid (Hynes *et al.*, 1995). In this case, the pump sprayer was directed to the base of the stem of the plant.

Inoculación de las plantas

La inoculación se realizó después de tapada la semilla, con un aspersor manual cuyo surtidor fue dirigido al surco. Esta actividad se llevó a cabo en horas frescas de la mañana. La reinoculación de los tratamientos se efectuó 20 días después de la siembra, con un inóculo recién elaborado que contenía 10^8 UFC mL⁻¹, concentración mínima aproximada recomendada para inoculante líquido a base de rizobios (Hynes *et al.*, 1995), con el cual se realizó nuevamente la proporción antes señalada para su aplicación. En este caso, el surtidor del aspersor fue dirigido a la base del tallo de la planta.

Siembra del experimento y procedimientos agrotécnicos

Los experimentos se sembraron en 2009 en un área perteneciente a la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Sancti Spiritus 21° 53' 00" de latitud norte y los 79° 21' 25" de longitud oeste y 40 msnm. El marco de siembra fue de 50 cm entre surco para *Triticum* y de 70 cm para *Zea mays*. La siembra se efectuó a chorrillo espaciado. Se sembró 54 kg ha⁻¹ (*Triticum*) y de 10 kg ha⁻¹ (*Zea mays*). Cada parcela midió 4 m*3 m (*Triticum*) y 4 m*8 m (*Zea mays*). La preparación del suelo se efectuó una rotura, grada, cruce, recrue, grada y surcado. Se aplicaron 4 riegos a cada experimento. A los 90 días de siembra se realizó la cosecha (variedades de *Triticum aestivum* y de *Zea mays*), y a los 120 días la variedad Triticale (*Triticum secale*), todo de forma manual. En los dos experimentos el tratamiento fertilizado recibió una aplicación de nitrógeno de 150 kg N ha⁻¹ (urea) a los 20 días de siembra.

Control de plagas y enfermedades

De manera profiláctica, se realizaron tres aplicaciones de *Bacillus thuringiensis* biovar. 26, a partir de los 15 de siembra, cada 7 días, a razón de 6 L ha⁻¹. El biopreparado se aplicó con un aspersor cuyo surtidor fue dirigido a todas las partes de la planta, con énfasis en la parte foliar, en una dilución con agua de 1:15 hasta llegar a 16 L de volumen total con un título inicial de 10^9 esporas mL⁻¹ (Anon, 2008).

Diseño experimental y análisis estadístico

Se aplicó un diseño experimental de parcelas divididas (Ruesga *et al.*, 2005), con dos factores a tener en cuenta: tipo de fertilización (inoculado, fertilizado y control absoluto) y variedad de planta IRM-32 e IRM-37 (*Triticum aestivum*); Canilla y VST-6 (*Zea mays*), y 4 réplicas por tratamiento. Se aplicó un análisis de varianza bifactorial (paquete estadístico

Experiment sowing and agro-technical procedures

The experiments were planted in 2009 in an area belonging to the Experimental Station of Pastures and Forages Sancti Spiritus, 21° 53' 00" north latitude and the 79° 21' 25" west longitude and 40 m. The planting frame was 50 cm between furrows for *Triticum* and 70 cm for *Zea mays*. Sowing was carried out in spaced furrows. 54 kg ha⁻¹ (*Triticum*) and 10 kg ha⁻¹ (*Zea mays*) were sowed. Each plot measured 3 m*4 m (*Triticum*) and 4 m*8 m (*Zea mays*). Soil preparation was made a break, step, cross, recross, harrowing and furrowing. 4 irrigations were applied to each experiment. At 90 days of sowing were harvested (varieties of *Triticum aestivum* and *Zea mays*), and at 120 days the variety Triticale (*Triticum secale*), all made manually. In both experiments the fertilized treatment received a nitrogen application of 150 kg N ha⁻¹ (urea) at 20 days of planting.

Pests and diseases control

As a prophylactic, there were three applications of *Bacillus thuringiensis* biovar. 26 from the day 15th of sowing, each 7 days at a rate of 6 L ha⁻¹. The bioproduct was applied with a spray jet which was addressed to all parts of the plant, with emphasis on the leaf, at a dilution of 1:15 with water up to 16 L of total volume with an initial titer of 109 spores mL⁻¹ (Anon, 2008).

Experimental design and statistical analysis

We performed a split plot (Ruesga *et al.*, 2005), with two factors to consider: type of fertilization (inoculated, fertilized and full control) and variety of plant IRM-32 and IRM-37 (*Triticum aestivum*); Canilla and VST-6 (*Zea mays*), and 4 replicates per treatment. We applied a two-factor analysis of variance (SPSS, v. 15.0 for Windows) to check the effect of both factors (varieties and fertilization), and an analysis of variance of a factor considering all treatments of the interaction. Differences between means were calculated by the Duncan test ($p < 0.05$, $p < 0.01$). In the case of the variables when subjected to analysis of variance, differences were observed only for the variety factor, we applied the t-student test for equal variances. Data digits counting the variable (Number of leaves/plant) were transformed by \sqrt{x} (Ostle, 1984). We assessed the following agronomic variables:

Experiment No. 1 (*Triticum aestivum* and *T. secale*) shoot dry weight (g plot⁻¹), root dry weight (g plant⁻¹), stem length (cm), number of spikes/plant, grain yield (t ha⁻¹) and 1 000-grains weight (g).

SPSS, v. 15.0 para Windows), para comprobar el efecto de dos factores (variedades y fertilización), así como un análisis de varianza de un factor considerando todos los tratamientos de la interacción. Las diferencias entre medias se calcularon por la prueba de Duncan ($p < 0.05$, $p < 0.01$). En el caso de las variables que al aplicarles el análisis de varianza, se les observaron diferencias sólo para el factor variedad, se aplicó la prueba t-student para varianzas iguales. Los datos de la variable con conteo de dígitos (Núm. de hojas/planta) fueron transformados por \sqrt{x} (Ostle, 1984). Se evaluaron las siguientes variables agronómicas:

Experimento Núm. 1 (*Triticum aestivum* y *T. secale*): peso seco aéreo (g parcela⁻¹), peso seco raíz (g planta⁻¹), longitud del tallo (cm), número de espigas/planta, rendimiento de grano (t ha⁻¹) y peso de 1 000 granos (g).

Experimento Núm. 2 (*Zea mays*): peso seco aéreo (kg parcela⁻¹), longitud del tallo (cm), peso seco de la mazorca (kg), número de mazorcas planta⁻¹ y número de hojas planta⁻¹.

Resultados y discusión

Experimento con *Triticum*

Se pueden observar en el Cuadro 3 los resultados estadísticos de tres variables evaluadas en *Triticum* (peso seco aéreo, rendimiento de grano y peso de 1 000 granos), que en el análisis de varianza mostraron diferencias significativas, para la interacción de los factores variedad y tipo de fertilización.

Cuadro 3. Resultados de análisis en la interacción variedad-tipo de fertilización con las variables peso seco aéreo, rendimiento de grano y peso de 1 000 granos.

Table 3. Results of analysis on the interaction range-rate fertilization variables aerial dry weight, grain yield and grain weight of 1 000.

Interacción de los factores variedad*tipo de fertilización	Peso seco aéreo (g parcela ⁻¹)	Rendimiento de grano (extrapolado) (t ha ⁻¹)	Peso de 1 000 granos (g)
Triticale - inoculado	441.5 a ¹	2.8 a	37.2 ab
Triticale - C. fertilizado	377.4 b	1.9 bc	33.2 c
Triticale - C. absoluto	322.5 bc	2.1 bc	35.2 abc
IRM-37 - inoculado	322.7 bc	2.3 ab	35 bc
IRM-37 - C. fertilizado	303.3 c	1.9 bcd	37.7 a
IRM-37 - C. absoluto	237.3 d	1.8 cd	34.1 c
IRM-32 - inoculado	166 e	1.4 d	34 c
IRM-32 - C. fertilizado	302.5 c	2 bc	35.3 ab
IRM-32 - C. absoluto	207.3 de	1.7 cd	33.2 c
CV (%)	29.76	24.19	5.95
Significancia	$p < 0.001$	$p < 0.05$	$p < 0.05$

¹= valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales; diferencias por Duncan (1955).

Experiment No. 2 (*Zea mays*) shoot dry weight (kg plot⁻¹), stem length (cm), cob dry weight (kg), number of pods per plant⁻¹ and number of leaves per plant⁻¹.

Results and discussion

Experiment with *Triticum*

Shown in Table 3, the statistical results of three variables evaluated in *Triticum* (air dry weight, grain yield and weight of 1 000 grains) that the analysis of variance showed significant differences for the interaction of variety and type of fertilization.

The best combination of these factors accounted by Triticale-inoculated treatment, showed statistical superiority ($p < 0.001$) in shoot dry weight (441.5 g plot), grain yield ($p < 0.05$) (2.8 t ha⁻¹) and weight of 1 000-grains (37.2 g), although the latter variable also Triticale-absolute control treatments (35.2 g), IRM37-inoculated (35.0 g), IRM37-fertilized (37.7 g) and IRM32-fertilized (35.3 g) shared common superscripts with statistically higher than other treatments.

The response of triticale-inoculated in these highly important productive variables, suggests an efficient interaction between this variety and the bacterial inoculum, indicating that this strain is highly promising for local agriculture. According Dobbelaere *et al.* (2003), Rhizobium, among other diazotrophs are capable of producing water soluble

La mejor combinación de dichos factores correspondió al tratamiento Triticale-inoculado, el cual mostró superioridad estadística ($p < 0.001$) en peso seco aéreo (441.5 g parcela), rendimiento de grano ($p < 0.05$) (2.8 t ha⁻¹) y peso de 1 000 granos (37.2 g), aunque en esta última variable también los tratamientos Triticale-control absoluto (35.2 g), IRM37-inoculado (35.0 g), IRM37-fertilizado (37.7 g) e IRM32-fertilizado (35.3 g) compartieron superíndices comunes con valores estadísticamente superiores al resto de los tratamientos.

La respuesta de triticale-inoculado en estas variables de alta importancia productiva, sugiere una eficiente interacción entre esta variedad y el inoculante bacteriano, lo cual indica que esta variedad es altamente promisorio para la práctica agrícola del territorio. Según Döbbelaere *et al.* (2003), los rizobios, entre otros diazotrofos, son capaces de producir vitaminas hidrosolubles del grupo B, lo cual es también un factor que estimula el factor de crecimiento de las plantas, específicamente en longitud del tallo, producción de materia seca, así como la capacidad de absorción de nutrientes.

Los datos mostrados en el Cuadro 3 confirman; asimismo, lo expresado por Salantur *et al.* (2006), y Matiru y Dakora (2006); de que 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. Un ejemplo lo constituye la variable rendimiento de grano, ya que el tratamiento IRM37-inoculado, presentó valores estadísticamente superiores con relación a los demás tratamientos y presentó superíndices comunes (2.3 t ha⁻¹) con el tratamiento triticale-inoculado (2.8 t ha⁻¹). Mantelin y Touraine (2003) indicaron que estas bacterias pueden incrementar el acceso de nutrientes, a través de la estimulación del sistema de captación de iones de la planta, lo cual necesariamente debe estar vinculado a especificidades del genotipo vegetal.

Los resultados estadísticamente más bajos con respecto al efecto del inoculante, correspondieron a la variedad IRM-32 (peso seco aéreo: 166 g parcela; rendimiento de grano: 1.4 t ha⁻¹; peso de 1 000 granos: 34 g). No se descarta que el factor genotipo vegetal haya influido notablemente en este resultado. El hecho que las variedades IRM-32 e IRM-37, ambas fertilizadas químicamente, hayan presentado un peso de los granos superior ($p < 0.05$) (35.3 g y 37.7 g, respectivamente) a triticale-fertilizado, especie de mayor porte (Plana, Rodolfo. Com. Pers.), pudiera responder a una selección previa de las primeras sobre la base de abundantes

vitaminas of group B, which is also a factor that stimulates the growth factor of the plants, specifically the stem length, dry matter and the capacity of absorption of nutrients.

The data shown in Table 3 confirm, and also expressed by Salantur *et al.* (2006), and Matiru and Dakora (2006) that, the performance gained by using associative bacteria requires the right combinations between plant genotypes and any specific strain. An example is the variable grain yield, as IRM37-inoculated treatment presented statistically higher values compared to the other treatments and, presented common superscripts (2.3 t ha⁻¹) with triticale-inoculated treatment (2.8 t ha⁻¹). Mantelin and Touraine (2003) indicated that these bacteria may increase the access of nutrients through the stimulation of ion uptake system on the plant, which necessarily must be linked to a specific plant genotype.

Statistically lower results regarding the effect of inoculum corresponded to the variety IRM-32 (air dry weight: 166 g plot, grain yield: 1.4 t ha⁻¹ 1 000-grains weight: 34 g). It is possible that the plant genetic factor had greatly influenced this result. The fact that the varieties IRM-32 and IRM-37, both chemically fertilized, has submitted a higher grain weight ($p < 0.05$) (35.3 g and 37.7 g, respectively) to triticale-fertilized species of larger size (planar, Rodolfo. Com. Pers) could respond to a previous selection of the first on the basis of heavy doses of fertilizer to obtain seeds, influencing the form of autotrophic nutrition of the plants (Table 3).

This phenomenon has been previously reported by Próvorov *et al.* (1996) in the selection of genotypes of *Trigonella foenum-graecum* L., inoculated with *Rhizobium meliloti*. We must never ignore the fact that statistically inoculated triticale, triticale-fertilized than in that variable and shared common superscripts IRM37-fertilized treatments, IRM37-inoculated and IRM32-fertilized, but also did it with triticale-absolute control, which could indicate that the seed filling in this range, due to the influence of indigenous rhizosphere bacteria was carried out as efficiently as by the action of the strain introduced. According to Linderman (1993), Ferrera-Cerrato and Alarcón (2000), microorganisms can alter the rate of nutrient uptake by the plant's roots directly effecting in a more efficient absorption.

The Table 4 shows that MRI and MRI-32-37, presented no significant differences in any of the variables. Besides, it was found that the variety Triticale showed statistical superiority ($p < 0.001$) in root dry weight and stem length as well (6.2 g and 84.7 cm, respectively) ($p < 0.05$) with respect to IRM-37

dosis de fertilizantes para la obtención de semilla, lo cual influye en la forma de nutrición autotrófica de las plantas (Cuadro 3).

Este fenómeno ha sido anteriormente informado por Próvorov *et al.* (1996) en la selección de genotipos de *Trigonella foenum-graecum* L., inoculada con *Rhizobium meliloti*. No se debe obviar, el hecho de que triticale-inoculado resultó estadísticamente superior a triticale-fertilizado en dicha variable, y que compartió superíndices comunes con los tratamientos IRM37-fertilizado, IRM37-inoculado e IRM32-fertilizado, aunque también lo hizo con triticale-control absoluto, lo cual pudiera indicar que el llenado de las semillas en esa variedad, debido a la influencia de las bacterias rizosféricas autóctonas, se realizó de forma tan eficiente como por la acción de la cepa introducida. Según Linderman (1993); Alarcón y Ferrera-Cerrato (2000), los microorganismos pueden alterar la velocidad de toma de nutrientes de las plantas por efecto directo en las raíces, así como hacer más eficiente la absorción de los mismos.

En el Cuadro 4 se observa que IRM-32 e IRM-37, no presentaron diferencias significativas en ninguna de las dos variables estudiadas. Por otra parte, se constató que la variedad Triticale mostró superioridad estadística ($p < 0.001$) en peso seco raíz y longitud del tallo (6.2 g y 84.7 cm, respectivamente) ($p < 0.05$) con respecto a IRM-37 e IRM-32. Este resultado en la variable peso seco raíz, sugiere que como especie, *T. secale* pudiera tenerse en cuenta para su utilización como cultivo en condiciones de estrés hídrico, por la ventaja de absorción eficiente de humedad y de nutrientes que presupone un sistema radical desarrollado (Yang *et al.*, 2009). También, si tenemos en cuenta la superioridad estadística de Triticale en peso seco raíz y la variación mostrada para esa variable, pudiéramos inferir que existe alta diferenciación entre las especies *T. aestivum* y *T. secale*, estudiados en cuanto al carácter peso seco raíz.

El Cuadro 5 muestra los resultados del análisis de varianza con el factor tipo de fertilización, en el cual sólo se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$), en la variable número de espigas. Se constató que el tratamiento fertilizado presentó valores estadísticamente superiores (2.5 espigas planta⁻¹) a los del control absoluto y, aunque el tratamiento inoculado compartió superíndices comunes con el control absoluto (2.4 espigas planta⁻¹ y 2.1 espigas planta⁻¹, respectivamente), también presentó letras iguales con el control fertilizado, lo cual indica el efecto positivo muy discreto del inoculante

and IRM-32. This results in variable root dry weight, suggests that as a species, *T. secale* may be considered for use as crop water stress because of its advantage on efficient absorption of moisture and nutrients that presupposes a developed of the root system (Yang *et al.*, 2009). Also, if we consider the statistical superiority of Triticale regarding its root dry weight, and the variation shown for that variable, we can infer that there is a high differentiation between species *T. aestivum* and *T. secale*, studied in terms of root dry weight basis.

Cuadro 4. Resultados del análisis de un factor (variedad) con las variables peso seco raíz y longitud del tallo.

Table 4. Results of analysis of a factor (variety) with the variables root dry weight and stem length.

Factor variedad	Peso seco raíz (g)	Longitud del tallo (cm)
Triticale	6.2 a ¹	84.8 a
IRM-37	3.1 b	77.2 b
IRM-32	3.3 b	75.2 b
CV (%)	31.98	9.23
Significancia	$p < 0.001$	$p < 0.05$

¹= valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales; diferencias por Duncan (1955).

The Table 5 shows the results of analysis of variance with the factor type of fertilization, in which only significant differences ($p < 0.05$) in the variable number of spikes. It was found that, the fertilized plots showed statistically higher values (2.5 ears plant⁻¹) to control all and, although the treatment inoculated with shared common superscripts absolute control (2.4 ears plant⁻¹ and 2.1 ears plant⁻¹, respectively) also presented with the same letters fertilized control, indicating the positive effect of inoculant bacterial quite discreet in this variable, and a possible influence of the indigenous population of rhizosphere bacteria, capable of stimulating the plant's growth.

These rhizobacteria, like those introduced in the present experiment are associated with the roots of the grass, due to the influence of organic compounds product of root exudates, such as carbohydrates, organic acids and microbial growth factors (Omay *et al.*, 1993; Chelius and Triplett, 2000). However, by not using specific laboratory techniques in this field, the authors of this paper cannot issue a conclusion with respect to defining this outcome, nor to those shown in Table 3, which suggest the marked influence of native microorganisms in some variables.

bacteriano en esta variable, y una posible influencia de la población de bacterias rizosféricas autóctonas, con capacidad de estimular el crecimiento vegetal.

Estas rizobacterias, al igual que las introducidas en el presente experimento, se asocian a las raíces de la gramínea, debido a la influencia de compuestos orgánicos producto de los exudados radicales, como: carbohidratos, ácidos orgánicos y factores de crecimiento microbiano (Omay *et al.*, 1993; Chelius y Triplett, 2000). No obstante, al no utilizar las técnicas de laboratorio específicas en este campo, los autores del presente trabajo no pueden emitir una conclusión definitiva con respecto a este resultado, ni a los mostrados en el Cuadro 3, los cuales sugieren la influencia marcada de los microorganismos autóctonos en algunas variables evaluadas.

Experimento con *Zea mays*

Se observó en el Cuadro 6 los resultados estadísticos de tres variables medidas en *Zea mays* (peso seco aéreo, peso seco de la mazorca y longitud del tallo), los cuales en el análisis de varianza mostraron diferencias significativas para la interacción de los factores variedad y tipo de fertilización.

Cuadro 6. Resultados del análisis en la interacción variedad-tipo de fertilización con las variables peso seco aéreo, peso seco de la mazorca y longitud del tallo.

Table 6. Results of analysis on the interaction range, type of fertilization variables aerial dry weight, dry weight of ear and stem length.

Interacción de los factores Variedad*tipo de fertilización	Peso seco aéreo (kg parcela ⁻¹)	Peso seco de la mazorca (kg)	Longitud del tallo (cm)
Canilla - inoculado	2.36 d	0.6 ab	191.5
Canilla - C. fertilizado	3.28 ab	0.575 ab	200.5
Canilla - C. absoluto	2.8 c	0.475 c	199
VST- 6 - inoculado	2.93 bc	0.55 bc	206.25
VST- 6 - C. fertilizado	3.59 a ¹	0.65 a	190.5
VST- 6 - C. absoluto	2.31 d	0.565 b	191.5
CV (%)	18.41	12.63	7.41
Significancia	$p < 0.005$	$p < 0.05$	NS

¹= valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales; diferencias por Duncan (1955).

En peso seco aéreo (Cuadro 6), los mejores resultados fueron para los tratamientos fertilizados, tanto en la variedad VST-6 (3.51 kg parcela⁻¹), como en la variedad Canilla (3.28 kg parcela⁻¹) ($p < 0.005$). A su vez, VST6-inoculado (2.93 kg parcela⁻¹), presentó superíndices comunes con Canilla-fertilizado (3.28 kg parcela), a pesar de ser estadísticamente menor que VST-fertilizado (3.59 kg parcela⁻¹), por lo

Cuadro 5. Resultados del análisis de un factor (tipo de fertilización) con la variable número de espigas.
Table 5. Results of analysis of a factor (type of fertilization) with variable number of spikes.

Tipo de fertilización	Número de espigas	
	Mediana	Datos transformados, \sqrt{x}
Control absoluto	4	2.1 b
Inoculado	6	2.4 ab
Control fertilizado	6	2.5 a ¹
CV (%)		15.96
Significancia		$p < 0.05$

¹= valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales; diferencias por Duncan (1955).

Experiment with *Zea mays*

It was noted in Table 6 the statistical results of three variables measured in *Zea mays* (air dry weight, dry weight of ear and stem length), which in the analysis of variance showed significant differences for the interaction of variety and type of fertilization.

Shoot dry weight (Table 6), best results were for the fertilized treatments, both in the variety VST-6 (3.51 kg plot⁻¹), as in the variety Canilla (3.28 kg plot⁻¹) ($p < 0.005$). In turn, VST6-inoculated (2.93 kg plot⁻¹), presented with common superscripts Canilla-fertilized (3.28 kg plot), despite being statistically lower than VST-fertilized (3.59 kg plot⁻¹), so the factor variety seems to not have had more

que el factor variedad no parece haber tenido una mayor influencia en estos resultados, sino propiamente el tipo de fertilización. En este caso, se notó la influencia positiva del inoculante en la planta.

En peso seco de la mazorca (Cuadro 6), el tratamiento Canilla-inoculado compartió superíndices (0.6 kg) con Canilla fertilizado (0.575 kg) y VST-6 fertilizado (0.65 kg). La respuesta del tratamiento Canilla-inoculado en peso seco de la mazorca, variable de alta importancia productiva, sugiere una interacción moderadamente eficiente entre esta variedad y el inoculante bacteriano, lo que indica la posible selección de la misma para la práctica agrícola del territorio. Según Salantur *et al.* (2006), así como 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.

La variable longitud del tallo (Cuadro 6), no presentó diferencias significativas en ninguna combinación de los factores estudiados, al parecer, influido principalmente por el factor genotipo vegetal, en este caso con efecto homogéneo en el crecimiento. Diversos autores, como Döbbelaere *et al.* (2002) y Pecina-Quintero *et al.* (2005), consideraron que la respuesta de la planta a la inoculación depende de factores diversos, entre los que se encuentra el genotipo de la planta.

En cuanto a los resultados con un sólo factor (variedad) (Cuadro 7), se observó, que al igual que en la interacción de los dos factores estudiados: variedad y tipo de fertilización, longitud del tallo no arrojó diferencias significativas en sus valores, lo cual indica que estas variedades no presentaron respuestas diferenciadas en cuanto a esta variable, por lo que se descarta cualquier tipo de influencia del genotipo vegetal.

El Cuadro 8 muestra los resultados del análisis con el factor tipo de fertilización, el cual mostró diferencias significativas en las variables número de mazorcas y número de hojas.

Se constató que los tratamientos fertilizados e inoculados, compartieron superíndices comunes en número de hojas (3.78 hojas planta⁻¹ y 3.76 hojas planta⁻¹, respectivamente) y que ambos factores, en esa misma variable presentaron valores estadísticamente superiores ($p < 0.05$) a los del control absoluto; lo cual indica el efecto positivo del inoculante bacteriano. Este resultado en la variable estudiada no es sorprendente: en estudios previos, Mia y Samsuddin (2010) informaron que la inoculación con rizobios, desarrolló la

influence on these results, but the type of fertilization itself. In this case, the positive effect was noticed in the inoculant in the plant.

For dry weight of the ear (Table 6), the treatment Canilla-inoculated shared superscripts (0.6 kg) with fertilized Canilla (0.575 kg) and VST-6 fertilized (0.65 kg). The treatment response Canilla-inoculated in dry weight of the cob, variable production of high importance, suggests a moderately efficient interaction between this variety and the bacterial inoculum, indicating the possible selection for itself for the local agriculture. According to Salantur *et al.* (2006), and Matiru and Dakora (2006), the performance gained by using associative bacteria, requires the right combinations between plant genotypes and any specific strain.

The variable stem length (Table 6), presented no significant differences in any combination of the factors studied, apparently, influenced mainly by the factor plant genotype, in this case with homogeneous effect on growth. Several authors, such as Döbbelaere *et al.* (2002) and Pecina-Quintero *et al.* (2005), considered that the plant's response to inoculation depends on various factors, among which is the genotype of the plant.

As for the results with a single factor (variety) (Table 7), we observed that as the interaction of the two studied factors: variety and type of fertilization, stem length showed no significant differences in their values, indicating that these varieties did not show differential responses in terms of this variable, so that any influence regarding the plant genotype was ruled out.

Cuadro 7. Resultados de t-student de un factor (variedad) con la variable longitud del tallo para dos tratamientos.

Table 7. Results of t-student of a factor (variety) with the variable length of the stem to both treatments.

Factor variedad	Longitud del tallo (cm)
Canilla	196.67
VST-6	196.08
CV (%)	7.41
Significancia	NS

¹= valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales; diferencias por Duncan (1955).

The Table 8 shows the results of factor analysis with the type of fertilization, which showed significant differences in the variables number of ears and number of leaves.

conductancia estomática, con un incremento de 12% de la tasa fotosintética y en variedades de arroz presentaron 16% de incremento en el rendimiento.

It was found that fertilized and inoculated treatments, sharing common superscripts in number of leaves (3.78 leaves plant⁻¹ and 3.76 leaves plant⁻¹, respectively) and

Cuadro 8. Resultados del análisis de un factor (tipo de fertilización) con las variables número de mazorcas, número de hojas y longitud del tallo.

Table 8. Results of analysis of a factor (type of fertilization) with variable number of ears, number of leaves and stem length.

Tipo de fertilización	Núm. mazorcas planta ⁻¹ (datos transformados con \sqrt{x})	Núm. hojas planta ⁻¹ (datos transformados con \sqrt{x})	Longitud del tallo (cm)
C. absoluto	1.19 ab	3.65 b	1.95
Inoculado	1.22 a ¹	3.78 a	1.98
C. fertilizado	1.12 b	3.76 a	1.96
C V (%)	7.13	2.71	7.41
Significación	$p < 0.05$	$p < 0.05$	NS

¹= valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales; diferencias por Duncan (1955).

Se observó además, que en número de mazorcas (Cuadro 8), el control absoluto compartió superíndices comunes con el tratamiento inoculado y el control fertilizado (1.19 mazorcas planta⁻¹; 1.22 mazorcas planta⁻¹ y 1.12 mazorcas planta⁻¹, respectivamente). Esto indica de forma obvia la escasa o ninguna influencia de la fertilización química en esta variable, ya que en estudios anteriores en experimentos de campo (Bécquer *et al.*, 2008), el número de mazorcas tampoco presentó diferencias significativas en los tratamientos evaluados. La influencia de la población autóctona de rizobacterias con efecto estimulador del crecimiento vegetal, pudo haber sido otra de las causas de estos resultados, excepto en el tratamiento fertilizado, ya que está comprobado que los fertilizantes nitrogenados, pueden inhibir la supervivencia de algunas rizobacterias en el suelo (Mehnaz *et al.*, 2010).

Conclusiones

Las variedades triticale, IRM-37 (experimento con *Triticum secale* y *T. aestivum*) y Canilla (experimento con *Zea mays*), presentaron las mejores respuestas a la inoculación con *Bradyrhizobium* sp.

Triticum secale mostró superioridad estadística en peso seco raíz y longitud del tallo con respecto a *T. aestivum*, lo cual indica un alto potencial de tolerancia a la sequía de dicha variedad.

both, in that same variable values were statistically higher ($p < 0.05$) than the absolute control, which indicates the positive effect of bacterial inoculum. This result for the variable studied was not that surprising: in previous studies, Mia and Samsuddin (2010) reported that inoculation with rhizobia, developed stomatal conductance, an increase of 12% of the photosynthetic rate in rice varieties and showed 16% of yield increase.

It was also observed in the number of ears (Table 8), absolute control shared common superscripts inoculated treatment and control fertilized (1.19 ears plant⁻¹; 1.22 cobs plant⁻¹ and 1.12 ears plant⁻¹, respectively). This indicates an obvious way for the little or no influence at all of chemical fertilization in this variable, as in previous studies in field experiments (Becquer *et al.*, 2008), the number of ears showed no significant differences in any of the treatments. The influence of the indigenous population of rhizobacteria with plant growth promoting effect could have been another cause for these results, except in the fertilized treatment, as it is shown that nitrogen fertilizers may inhibit the survival of some rhizobacteria in the soil (Mehnaz *et al.*, 2010).

Conclusions

Triticale varieties, IRM-37 (experiment *Triticum secale* and *T. aestivum*) and Canilla (*Zea mays* experiment) showed the best responses to inoculation with *Bradyrhizobium* sp.

En *Zea mays* no hubo diferencias estadísticas en la interacción variedad*tipo de fertilización, así como en cada uno de estos factores por separado en longitud del tallo, por lo que se descarta cualquier tipo de influencia del genotipo vegetal en dichos resultados.

La fertilización nitrogenada y la variedad vegetal, tuvieron marcada influencia en la respuesta de los cultivos estudiados, sobre todo en *Triticum aestivum* y *T. secale*.

Los resultados obtenidos en el peso de 1 000 granos y en número de espigas (experimento de *Triticum*), así como en número de mazorcas (experimento de *Zea mays*), sugieren una marcada influencia de los microorganismos rizosféricos autóctonos en dichas variables.

Agradecimiento

Los autores(as) agradecen profundamente la inestimable ayuda brindada por los especialistas Nóster F. Fajardo Pérez y Susana Vega Trompeta, así como por el técnico Luis A. Palmero González en el montaje y evaluación de los experimentos.

Literatura citada

- Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. 2000. Biofertilizantes: importancia y utilización en la agricultura. *Agríc. Téc. Méx.* 20 (1): 43-54.
- Anon. 1979. Clasificación genética de los suelos de Cuba. Academia de Ciencias de Cuba. Instituto de Suelos. La Habana, Cuba.
- Anon. 2008. Lista oficial de plaguicidas autorizados 2008-2010. Registro central de plaguicidas. República de Cuba. 421 p.
- Antoun, H. and Prévost, Danielle. 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. *In: PGPR: biocontrol and biofertilization*. Siddiqui, Z. A. (ed.). 318 p.
- Anya, A. O.; Archambault, D. J.; Bécquer, C. J. and Slaski, J. J. 2009. Plant growth-promoting diazotrophs and productivity of wheat on the Canadian prairies. *In: microbial strategies for crop improvement*. Khan, M. S. *et al* (eds.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Chapter. 4:287-300.

Triticum secale showed statistical superiority in root dry weight and stem length with respect to *T. aestivum*, indicating a high potential for drought tolerance.

In *Zea mays* there was no statistical difference in the interaction variety*fertilization type, as well as in each of these factors separately in stem length, so that any influence of the plant genotype in these results was ruled out.

Nitrogen fertilization and plant variety had a marked influence on the response of the crops studied, especially in *Triticum aestivum* and *T. secale*.

The results obtained in the 1 000-grains weight and the number of spikes (*Triticum* experiment) and in the number of ears (*Zea mays* experiment) suggest a marked influence of the indigenous rhizosphere microorganisms in these variables.

End of the English version



- Baldani, V. L. D.; Baldani, J. I. and Döbereiner, J. 1987. Inoculation of field-grown wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum* spp. in Brazil. *Biol. Fertil. Soils.* 4:37-40.
- Bashan, Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances.* 16:729-770.
- Bhattacharai, T. and Hess, D. 1993. Yield responses of Nepalese spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to inoculation with *Azospirillum* spp. of Nepalese origin. *Plant Soil.* 151:67-76.
- Bécquer, C. J. 2002. Caracterización y selección de rizobios aislados de leguminosas nativas de Sancti-Spíritus, Cuba. Tesis Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad de La Habana. 130 p.
- Bécquer, C. J.; Salas, Ávila, U.; Palmero, L. A.; Nápoles, J. A.; Ulloa, Lisbet. 2008. Selección de cepas de rizobios aisladas de ecosistemas ganaderos de Cuba, inoculadas en trigo (*Triticum aestivum* L.). *Rev. Pastos y Forrajes.* 31:63-72.
- Bhattacharai, T. and Hess, D. 1993. Yield responses of Nepalese spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to inoculation with *Azospirillum* spp. of Nepalese origin. *Plant Soil.* 151:67-76.
- Biswas, J. C.; Ladha, J. K. and Dazzo, F. B. 2000. Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Soc. Am. J.* 64:1644-1650.

- Chaviano, M. 2005. El sorgo: contribución al desarrollo sostenible y ecológico de la producción popular de arroz. *Rev. Agr. Org.* 1:8-11.
- Chelius, M. K. and Triplett, E. W. 2000. Prokaryotic Nitrogen fixation; model system for the analysis of a biological process. Ed Horizont Scientific Press. Hwitts Lane Wymondahm NR18. England. 1-20 pp.
- Döbbelaere, S.; Croonenborghs, A.; Thys, A.; Ptacek, D.; Vanderleyden, P. J.; and Okon, Y. 2002. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biol. Fertil. Soils.* 36:284-297.
- Döbbelaere, Sofie.; Vanderleyden, J. and Okon, Y. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Crit. Rev. Plant Sci.* 22:107-149.
- Döbereiner, J. 1988. Isolation and identification of root-associated diazotrophs. *Plant Soil.* 110:207-212.
- Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics.* 11:1.
- Hernández, A.; Jiménez, J. M.; Bosch, D. y Rivero, L. 1999. Nueva revisión de la clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. 23 p.
- Hilali, A.; Prévost, D.; Broughton, W. J. and Antoun, H. 2001. Effects de l'inoculation avec des souches de *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii sur la croissance du blé dans deux sols du Maroc. *Can. J. Microbiol.* 47:590-593.
- Hynes, R. K.; Craig, K. A.; Couvert, D. and Rennie, R. J. 1995. Liquid rhizobial inoculants for Lentil and Field Pea. *J. Prod. Agric.* 8:547-552.
- Kevin, V. J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil.* 255:571-586.
- Linderman, R. G. 1993. Effect of microbial interactions in the mycorrhizosphere on plant growth and health. *In: agroecología, sostenibilidad y educación.* Ferrera-Cerratos, D. y Quintero, L. R. (eds.). Colegio de Postgraduados. Centro de Edafología. Montecillo, Estado de México, México.
- Mantelin, S. and Touraine, B. 2003. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: Impacts on root development and nitrate uptake. *J. Exp. Bot.* 55:27-34.
- Matiru, V. and 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.* 3:1-7.
- Mehnaz, Samina; Kowalik, T.; Reynolds, B. and Lazarovits, G. 2010. Growth promoting effects of corn (*Zea mays*) bacterial isolates under greenhouse and field conditions. *Soil Biol. Biochem.* 42:148-1856.
- Mia, M. A. B. and Shamsuddin, Z. H. 2010. *Rhizobium* as a crop enhancer and biofertilizer for increased cereal production. *African J. Biotechnol.* 37:6001-6009.
- Murty, M. G. and Ladha, J. K. 1988. Influence of *Azospirillum* inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponic conditions. *Plant Soil.* 108:281-285.
- Neves, Ma Cristina, Rumjanek, P. and Norma, G. 1997. Diversity and adaptability of Soybean and cowpea rhizobia in tropical soils. *Soil Biol. Biochem.* 29:5/6 889-895 pp.
- Omay, S. H, Schmidt, W. A. Martín, P. 1993. Indolacetic acid production by the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* Cd. under *in vitro* conditions. *Can J. Microbiol.* 39:187-192.
- Ostle, B. 1984. Estadística aplicada. Editorial Científico Técnica. 629 p.
- Pecina-Quintero, V.; Díaz-Franco, A.; Williams-Alanis, H.; Rosales-Robles, E. y Garza-Cano, I. 2005. Influencia de fecha de siembra y biofertilizantes en Sorgo. *Rev. Fitotec. Mex.* 28:389-392.
- Plana, R. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba. Comunicación personal.
- Plata-Guzmán, D.; Farias-Rodríguez, R.; Cárdenas-Navarro, R. y Sánchez-Yañez, J. M. 1997. Respuesta de maíz (*Zea mays* L.) a la inoculación con rizobacterias de teocintle (*Zea mays* sp. mexicana L). URL: <http://www.monografias.com/>.
- Prévost, D.; Drouin, P. and Antoun, H. 1999. The potential use of cold-adapted rhizobia to improve symbiotic nitrogen fixation in legumes cultivated in temperate regions. *In: biotechnical applications of cold-adapted organisms.* Margesin, R. y Schinner, F. (eds.). 161-176 pp.
- Prévost, D.; Saddiki, S. and Antoun, H. 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. Octubre 29 a Noviembre 3. 7 p.
- Próvorov, N. A.; Soskev, Y. D.; Lutova, L. A.; Sokolova, O. A. and Bairamov, S. S. 1996. Investigation of the fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) genotypes for fresh weight, seed productivity, symbiotic activity, callus formation and accumulation of steroids. *Euphytica.* 88:129-138.

- Ruesga, I. Peña, E.; Expósito, I. y Gardon, D. 2005. Libro de experimentación agrícola. Editorial Universitaria. Ciudad Habana, Cuba. 71-76 p.
- Salantur, A.; Ozturk, A. and Akten, S. 2006. Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to inoculation with rhizobacteria. *Plant Soil Environ.* 52:111-118.
- Somasegaran, P. and Hoben, H. J. 1994. Handbook for rhizobia. Springer-Verlag, New York. 450 p.
- Vincent, J. M. 1970. A manual for the practical study of root nodules bacteria. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh. 164 p.
- Vincent, J. M. 1982. Nitrogen fixation in legumes. Academic Press. Sydney. 288 p.
- Yang, J.; Kloepper, J. W. and Ryu, Choong-Min. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *In: Trends in Plant Science.* 14(1):1-4.