

Artículo original

## Selección de una rizobacteria promotora del crecimiento en papa (*Solanum tuberosum* L.)

Ing. Gedson Gervasio<sup>1</sup>

Dr.C. Eduardo Jerez-Mompie<sup>1\*</sup>

M.Cs. Belquis-Morales<sup>1</sup>

Dra.C. María Caridad-Nápoles<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700

\* Autor para correspondencia. [ejerez@inca.edu.cu](mailto:ejerez@inca.edu.cu)

### RESUMEN

El empleo de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal tiene efectos beneficiosos sobre los cultivos, por lo que el objetivo del presente trabajo fue seleccionar una cepa del género *Rhizobium* capaz de estimular el crecimiento en papa. Con este fin se desarrolló un trabajo en condiciones semicontroladas y el empleo de dos cepas (C1: *Rhizobium etli* CE-3 y C2: *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001) así como dos dosis de cada una (D1: 3 µL y D2: 6 µL) aplicadas en el nicho en que se colocaron los tubérculo en el momento de la plantación. Mediante un diseño completamente aleatorizado se distribuyeron cinco tratamientos que incluía un control sin inocular y el empleo de cepas y dosis, con diez repeticiones por cada uno. No se aplicó fertilización química en ningún caso. Se utilizaron recipientes de seis litros de capacidad, que se llenaron con suelo Ferralítico Rojo Eútrico. Las evaluaciones se realizaron a los 40 días después de la plantación y consistieron en determinar la altura las plantas, el número de tallos, la cantidad de estolones emitidos por tubérculos, el número promedio de hojas por tallo, la superficie foliar y las unidades SPAD determinadas en dos momentos. En todas las variables evaluadas la cepa *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001, fue la que propició el mejor resultado con diferencias significativas respecto al control.

**Palabras clave:** *Rhizobium*, altura de la planta, número de tallos, superficie foliar, estolones

Recibido: 01/10/2018

Aceptado: 28/03/2019

## INTRODUCCIÓN

El agotamiento de los recursos naturales por la acción del hombre de una manera desmedida, insta al empleo de nuevas tecnologías para minimizar el deterioro producido al ambiente, de ahí que en la actualidad, se trata de que las mismas sean en gran medida amigables con el medio ambiente, en cuanto al control de plagas y enfermedades de los cultivos y de los agroecosistemas, con la finalidad de recuperar y mantener la fertilidad de los suelos.

Entre estas prácticas, el uso de abonos orgánicos y de microorganismos nativos, como los del grupo de Rizobacterias Promotoras de Crecimiento de Plantas (PGPR, por sus siglas en inglés) podría ser parte de la solución efectiva en la disminución del uso de agroquímicos y recuperación de la fertilidad de los suelos agrícolas <sup>(1)</sup>.

Las PGPR son microorganismos del suelo, generalmente bacterias y hongos, que se asocian de manera natural a las raíces de las plantas de una forma más o menos íntima; facilitan de manera directa o indirecta la disponibilidad de determinados nutrientes para las plantas, tales como nitrógeno, fósforo e hierro <sup>(2)</sup>, pero no todas contribuyen de igual manera, su acción se ha comprobado en diferentes cultivos <sup>(3)</sup> tales como: trigo <sup>(4)</sup>, maíz <sup>(5)</sup> y habichuela <sup>(6)</sup>, entre otros. Esos estudios muestran la capacidad de las PGPR para incrementar el crecimiento y el rendimiento de los mismos, con un menor empleo de productos agroquímicos, lo que evita afectaciones para el ambiente <sup>(3)</sup>.

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) se ha desarrollado y ampliamente estudiado en todo el mundo, siendo considerado uno de los principales alimentos para el ser humano a nivel mundial, superado solamente por el arroz, el trigo y el maíz <sup>(7)</sup>.

Los mismos autores consideran que las producciones de papa son elevadas, pero para lograrlas es necesario emplear diferentes productos, generalmente de naturaleza química (fertilizantes, plaguicidas, *etc*), tanto para asegurar la nutrición adecuada de las plantas, como para el control de las plagas que ocasionan mermas en los rendimientos. Es imprescindible también promover un adecuado crecimiento y desarrollo de las plantas, aun cuando ambos están determinados por factores genéticos y ambientales <sup>(8)</sup> y son el resultado de la interacción entre fotosíntesis, respiración, transporte de asimilados, relaciones hídricas y nutrición

mineral; que se traduce como el incremento irreversible en materia seca, volumen, longitud o área, como resultado de la división, expansión y diferenciación celular <sup>(9)</sup>.

A partir de lo antes expuesto se trazó como objetivo del presente trabajo seleccionar una cepa del género *Rhizobium* que estimulara el crecimiento de plantas de papa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en condiciones semicontroladas en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), para lo cual se plantaron en la primera quincena de diciembre tubérculos semilla obtenidas en el país de la variedad Romano, con un tamaño de 35-45 mm.

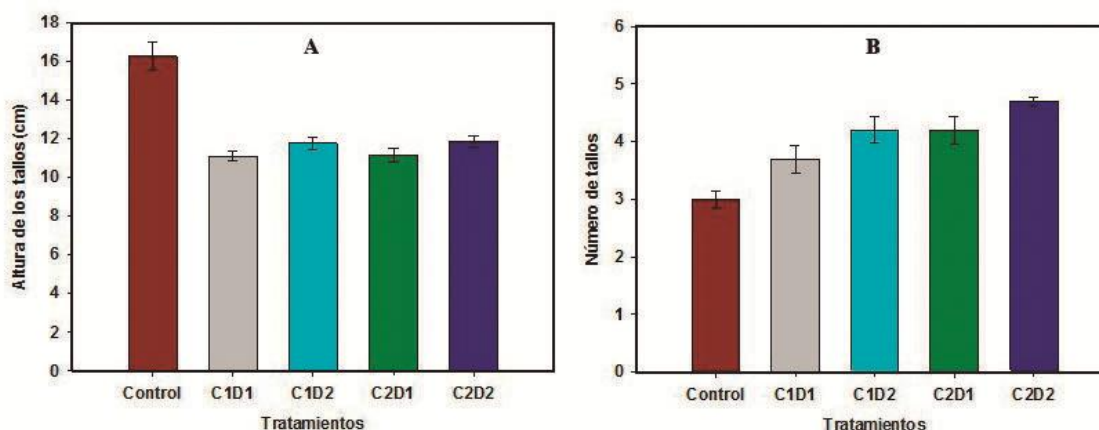
Se hizo uso de un diseño completamente aleatorizado, en el que se distribuyeron los cinco tratamientos considerados, los mismos consistieron en: un control sin inocular y el inóculo con el empleo de dos cepas: C1 (*Rhizobium etli* CE-3) y C2: (*Bradyrhizobium elkani* ICA 8001) así como dos dosis de cada una (D1: 3 µL y D2: 6 µL) las que se determinaron a partir de la masa de los tubérculos semilla que fueron empleados en la plantación, estas se aplicaron en el nicho en que se colocaron los tubérculos en el momento de la plantación. Cada tratamiento contó con 10 repeticiones.

Los recipientes, con un volumen de 6 L, se llenaron con suelo Ferralítico Rojo Eútrico <sup>(10)</sup> y no se empleó fertilización de ningún tipo. La humedad del suelo se mantuvo a la máxima capacidad de retención agregando el agua perdida por evapotranspiración, de forma manual. Las evaluaciones realizadas a los 40 días después de la plantación (DDP) consistieron en analizar las 10 plantas de cada uno de los tratamientos, para conocer la altura de las plantas (cm), el número de tallos por planta, la cantidad de estolones que tenían tubérculos por tallo, el número promedio de hojas por tallo, la superficie foliar en cm<sup>2</sup> a partir de las medidas lineales (largo y ancho) de las hojas de cada tallo y el empleo de la fórmula previamente establecida por análisis de regresión para esta variedad ( $y=LxA(0,495)+5,281$ ) donde L representa el largo de la hoja y A su ancho y por último, se estimó en dos momentos del crecimiento de las plantas (31 y 38 DDP) el nivel de clorofila foliar en hojas, expresados en unidades SPAD, mediante el empleo de un medidor portátil (MINOLTA).

Los datos obtenidos se graficaron con el empleo del programa SIGMA PLOT v.11 y luego de conocer el intervalo de confianza de las medias se compararon los tratamientos por t-Student a  $1-\alpha \leq 0,05$ , con el empleo del programa Statgraphycs v.5.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La altura de las plantas y el número de tallos promedio por planta (A y B), respectivamente, se presentan en la Figura 1. En el caso de los tratamientos que fueron inoculados con las cepas y dosis empleadas, los valores fueron menores sin diferencias significativas entre ellos, aunque sí con respecto al control, donde las plantas alcanzaron una altura mayor con diferencias significativas respecto al resto de los tratamientos.



La barra encima significa el intervalo de confianza de las medias a  $1-\alpha \leq 0,05$

**Figura 1.** Altura de las plantas (A) en cm y número de tallos promedio por planta (B) en plantas de papa inoculadas con dos cepas de rizobio (C1: *Rhizobium etli* CE-3 y C2: *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001) y dos dosis de cada una (D1: 3  $\mu$ L y D2: 6  $\mu$ L)

En el caso del número de tallos por planta estos fueron significativamente menores en el control, con respecto a las plantas inoculadas. La mayor dosis (6  $\mu$ L) incrementó el número de tallos en ambas cepas, con diferencias significativas respecto a la dosis más baja de cada una; pero la cepa 2, que se corresponde con *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001, propició el mejor resultado, solo comparable con la cepa 1 (*Rhizobium etli* CE-3) cuando se utilizó la mayor dosis de ella.

De acuerdo con los resultados, se observa que puede existir una estrecha relación entre la altura de las plantas y el número de tallos, pues al incrementar estos en la planta se reduce la altura, lo cual entre otros factores, está relacionado con las posibilidades que tiene el tubérculo semilla para proporcionarle a la nueva planta sus reservas, al tener que compartirlas con una menor cantidad de tallos, estos se verán favorecidos en su crecimiento <sup>(11)</sup>.

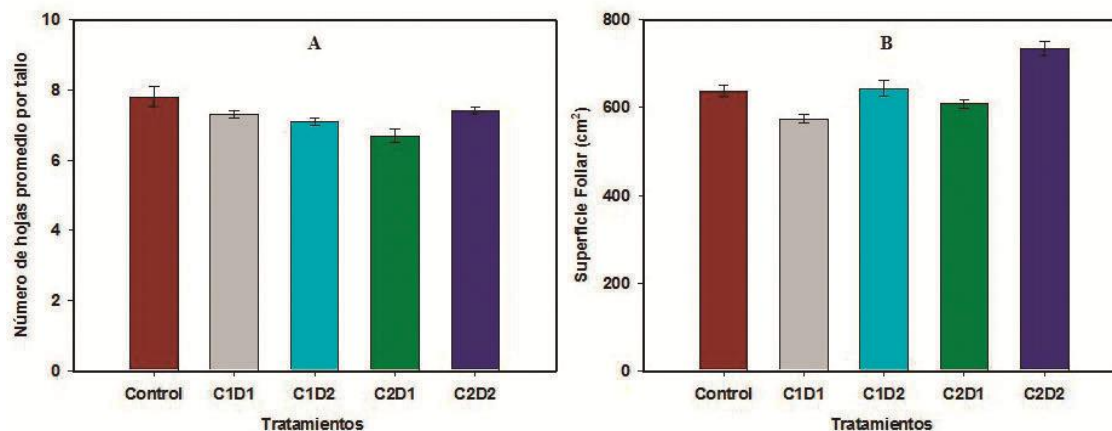
En cuanto a la altura, se ha planteado que depende en gran medida de la densidad de tallos, si ésta es baja, entonces las plantas alcanzan una mayor altura <sup>(11)</sup> y viceversa. También juega un papel importante en esta variable el efecto del empleo de microorganismos promotores del crecimiento, como fue el caso de este trabajo, pues se ha comprobado su efecto beneficioso en este sentido, así en un trabajo desarrollado en papa, pero en la producción de minitubérculos, los autores comprobaron que la inoculación realizada a plantas in vitro de papa cv. ‘Romano’ con cepas de bacterias, pero del género *Bacillus*, tuvo influencia positiva sobre la altura de las plantas y el número de tallos, aunque señalaron que esto también depende del tipo de cepa empleada <sup>(12)</sup>. Por otra parte otros autores señalaron que al menos no se emplee ningún producto que estimule la brotación <sup>(13)</sup>, no se encontrarán incrementos en el número de tallos por planta, aunque no se debe descartar la diferencia varietal <sup>(14)</sup>. El manejo del número de tallos <sup>(15)</sup> tendrá también una marcada influencia en la distribución del tamaño de los tubérculos.

El número de hojas promedio por tallo (A) y la superficie foliar (B) se presentan en la Figura 2. Si bien las diferencias en cuanto al número de hojas promedio por tallo no se manifestaron entre tratamientos, excepto con el tratamiento en el que se aplicó la cepa 2, con la dosis más baja, entonces esta variable determinante en muchos casos en el valor de la superficie foliar, en el que sí se encontraron diferencias entre tratamientos, el comportamiento de ésta última, en cuanto a la magnitud alcanzada, fue resultado del número de tallos promedio por planta, ya que en esa variable sí hubo diferencias, como ya se había analizado.

La superficie foliar resultó mayor en el tratamiento en el que las plantas fueron inoculadas con la cepa de *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001, cuando se aplicó la dosis más alta (C2D2), con diferencias significativas con el resto de los tratamientos. Entre el tratamiento control y el resto de los tratamientos, no se presentaron diferencias significativas, excepto con el tratamiento en el que se aplicó la dosis más baja de la cepa *Rhizobium etli* CE-3. Cabe significar que en los tratamientos inoculados con cualquiera de las cepas empleadas a la dosis mayor aplicada (6 µL) siempre se encontraron diferencias significativas en relación con la menor dosis, lo cual indica que esta resulta más adecuada para ser empleada en el cultivo que ha sido objeto de estudio.

La superficie foliar es una de las variables importantes relacionadas con los estudios del crecimiento de las plantas, pues su magnitud se asocia con la capacidad de la planta para realizar el proceso fotosintético, ya que existe una relación directa en este sentido. En trabajos

realizados donde se ha evaluado el efecto de la inoculación en el crecimiento de las plantas, se ha encontrado para el caso específico de la papa <sup>(16)</sup>, un incremento en los valores de la superficie foliar, respecto al control, aunque la cepa de *Rhizobium* empleada no fue la misma.



La barra encima significa el intervalo de confianza de las medias a  $1-\alpha \leq 0,05$

**Figura 2.** Número de hojas promedio por tallo (A) y superficie foliar por planta (B) en plantas de papa inoculadas con dos cepas de rizobio (C1: *Rhizobium etli* CE-3 y C2: *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001) y dos dosis de cada una (D1: 3  $\mu$ L y D2: 6  $\mu$ L)

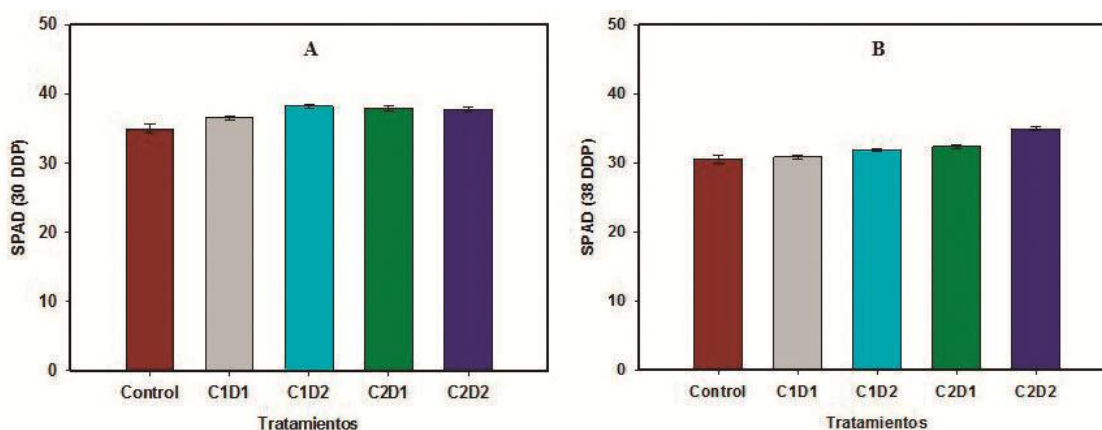
La superficie foliar es una de las variables importante relacionadas con el crecimiento de las plantas, pues su magnitud se asocia con la capacidad de la planta para realizar el proceso fotosintético, ya que existe una relación directa en este sentido. En trabajos realizados donde se ha evaluado el efecto de la inoculación en el crecimiento de las plantas, se ha encontrado para el caso específico de la papa <sup>(16)</sup>, un incremento en los valores de la superficie foliar, respecto al control, aunque la cepa de *Rhizobium* empleada no fue la misma.

Las evaluaciones de unidades SPAD a los 30 (A) y 38 (B) DDP, se presenta en la Figura 3. La tendencia en general fue encontrar mayores valores con respecto al control en las plantas que fueron inoculadas, con diferencias significativas respecto a ese tratamiento, excepto en la evaluación realizada a los 38 días, donde entre el control y la cepa *Rhizobium etli* CE-3, no se manifestaron diferencias significativas.

Los valores fueron más bajos a los 38 días, quizás porque la deficiencia nutricional se hizo más evidente al alcanzar las plantas un mayor desarrollo y necesidad de nutrientes que no habían sido satisfechas al no hacerse en la plantación aportes de fertilizantes, por tanto, el abastecimiento a las plantas para sus necesidades nutricionales solo dependían de los aportes

que pudiera hacer el suelo y de los efectos beneficiosos que realizan las bacterias promotoras del crecimiento inoculadas en el momento de establecer la plantación. Se destaca en ese sentido la cepa 2, donde los valores fueron en ocho unidades más elevados.

Valores más altos de unidades SPAD están relacionados con mayores contenidos de clorofila, lo cual asegura una mayor capacidad para la realización del proceso fotosintético, a su vez, un mejor estado nutricional de las plantas <sup>(17)</sup>.



La barra encima significa el intervalo de confianza de las medias a  $1-\alpha \leq 0,05$

**Figura 3.** Unidades SPAD determinadas a los 30 (A) y 38 (B) DDP, en plantas de papa inoculadas con dos cepas de rizobio (C1: *Rhizobium etli* CE-3 y C2: *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001) y dos dosis de cada una (D1: 3  $\mu$ L y D2: 6  $\mu$ L)

La presencia de bacteria promotoras del crecimiento por la inoculación con cepas del género *Rhizobium*, contribuyeron a mejorar el estado nutricional, lo cual está relacionado con un trabajo en el que al examinar la rizosfera de plantas de papa sometidas a una deficiencia nutricional se encontró un incremento en la cantidad de especies de *Rhizobium*, lo cual mejoró el estado nutricional de las plantas <sup>(18)</sup>, por lo que será necesario evaluar otras cepas de ese género.

Por otra parte, se señala que se usan dosis altas de nitrógeno <sup>(19)</sup> en el cultivo de la papa en aras de incrementar los rendimientos, que muestran una baja tasa del uso de este nutriente y altos contenidos de nitratos en las capas de suelo inferiores. También se ha comprobado que los sistemas de producción tradicionales, en los que se emplean cantidades elevadas de agroquímicos, están provocando afectaciones en la producción de papa <sup>(20)</sup>. Quizás, como señalan varios autores <sup>(21-23)</sup> lo más conveniente sería una mezcla de ambos, químicos y

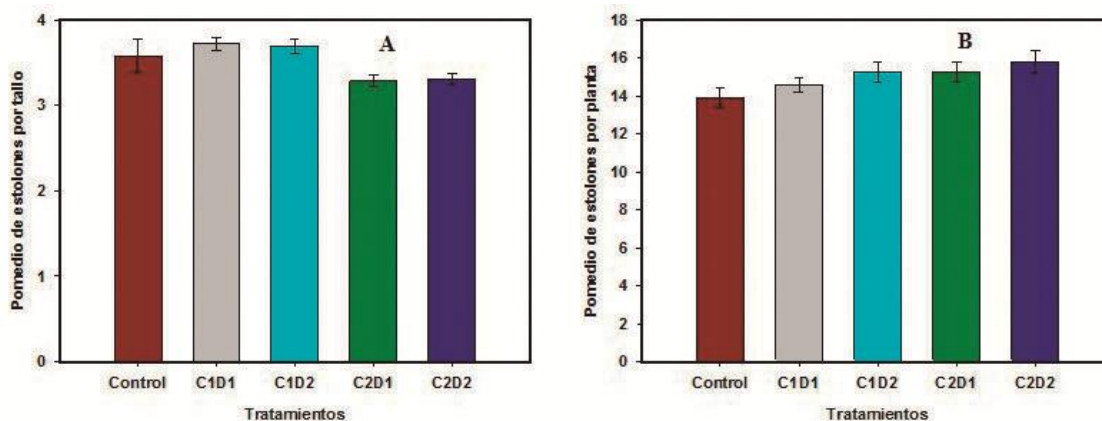


orgánicos, así de esta forma se disminuyen los primeros y se contribuye al cuidado del ambiente. Aspecto éste que ha sido últimamente recalcado <sup>(24)</sup>.

Al no llegarse al final del ciclo del cultivo se consideró importante analizar el número de estolones que en el momento de la evaluación ya habían formado tubérculo, como parte importante en la producción de este cultivo, estos resultados se presentan en la Figura 4.

Como puede observarse en la figura, el número promedio de estolones por tallo (A) no presentó diferencias entre tratamientos, las que si se evidencian en el promedio por planta (B) todo lo cual está en estrecha relación con el número de tallos, aspecto ya analizado.

Se destaca que el mayor promedio de estolones por planta, con diferencias significativas respecto al control, se alcanzó con la cepa 2 y cualquiera de las dosis empleadas, de forma similar ocurrió con la cepa 1, pero cuando se empleó la dosis más alta. Entre el control y esa cepa a la dosis más baja, no se detectaron diferencias significativas. De esta manera, se puede asegurar que el número de tubérculos producidos por planta será mayor en los tratamientos que fueron inoculados. Los incrementos en el número de estolones promedio por planta en las plantas que fueron inoculadas con la dosis más alta, significaron un 10,1 % en la cepa 1 y 13,7 % en la cepa 2.



La barra encima significa el intervalo de confianza de las medias a  $1-\alpha \leq 0,05$

**Figura 4.** Evaluación del número de stolones promedio por tallo (A) y promedio por planta (B) a los 38 DDP, en plantas de papa inoculadas con dos cepas de rizobio (C1: *Rhizobium etli* CE-3 y C2: *Bradyrhizobium elkanii* ICA 8001) y dos dosis de cada una (D1: 3  $\mu$ L y D2: 6  $\mu$ L)

El proceso de tuberización ocurre durante el periodo vegetativo, en ese período, bajo la superficie del suelo, las puntas de los estolones comienzan a ensancharse, dando paso a la formación de los tubérculos. Este fenómeno ocurre aproximadamente 30 días después de la



emergencia en variedades precoces, entre 35 y 45 días para variedades intermedias, y entre 50 y 60 días en aquellas de tipo tardío <sup>(25)</sup>. No obstante por las condiciones climáticas imperantes en Cuba, las variedades empleadas en su mayoría resultan ser precoces, tal es el caso de la variedad Romano empleada en este estudio <sup>(26)</sup>.

Las fitohormonas, además del fotoperiodo y la temperatura, juegan un papel primordial, ya que regulan los eventos morfológicos de tuberización activados en el ápice del estolón; los niveles altos de giberelinas inhiben la tuberización, mientras que los bajos la promueven. Los factores de transcripción son proteínas que se unen al ADN para regular la actividad de los genes y en algunos casos, para regular los niveles hormonales; varias de estas ligaduras proteicas del ADN están involucradas en la regulación del crecimiento de la planta y el desarrollo de los meristemos en papa, incluyendo la formación del tubérculo <sup>(27)</sup>.

La producción de fitohormonas por parte de las bacterias y su impacto en la morfogénesis de la raíz, podrían explicar gran parte los efectos positivos de las bacterias diazotróficas en el crecimiento vegetal, al incrementarse el número de pelos radicales y raíces laterales <sup>(28)</sup> pero, al menos en la literatura consultada, no se señala nada respecto a la estimulación de la tuberización, sin embargo, los efectos beneficiosos que aportan al crecimiento en general, también favorecen el desarrollo de otros procesos, aun cuando no están totalmente involucradas en ellos.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados permitieron comprobar que el empleo de la cepa *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001, con una dosis de 6 µL por tubérculo, incrementó el número de tallos por planta, la superficie foliar y el número de estolones, dado por el efecto positivo que la misma provoca en el crecimiento de diferentes especies. No obstante se podrían probar otras cepas del mismo género u otro, lo cual contribuirá también a profundizar en los aspectos relacionados con la nutrición de las plantas y la posible disminución de la fertilización química, con la consiguiente disminución de la contaminación del medio ambiente, aspecto de gran interés en la actualidad.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Arcos J, Zúñiga D. Rizobacterias promotoras de crecimiento de plantas con capacidad para mejorar la productividad en papa. *Revista Latinoamericana de la Papa*. 2016;20(1):18–31.
2. Naqqash T, Hameed S, Imran A, Hanif MK, Majeed A, van Elsas JD. Differential response of potato toward inoculation with taxonomically diverse plant growth promoting rhizobacteria. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7(144):1–12. doi:10.3389/fpls.2016.00144
3. Tailor AJ, Joshi BH. Harnessing plant growth promoting rhizobacteria beyond nature: a review. *Journal of Plant Nutrition*. 2014;37(9):1534–71. doi:10.1080/01904167.2014.911319
4. Majeed A, Abbasi MK, Hameed S, Imran A, Rahim N. Isolation and characterization of plant growth-promoting *Rhizobacteria* from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion. *Frontiers in Microbiology*. 2015;6(198):1–10. doi:10.3389/fmicb.2015.00198
5. Qaisrani MM, Mirza MS, Zaheer A, Malik KA. Isolation and identification by 16S rRNA sequence analysis of *Achromobacter*, *Azospirillum* and *Rhodococcus* strains from the Rhizosphere of maize and screening for the beneficial effect on plant growth. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences (Pakistan)*. 2014;51(1):91–9.
6. Pérez-Montaña F, Alías-Villegas C, Bellogín RA, del Cerro P, Espuny MR, Jiménez-Guerrero I, et al. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production. *Microbiological Research*. 2014;169(5–6):325–36. doi:10.1016/j.micres.2013.09.011
7. Devaux A, Kromann P, Ortiz O. Potatoes for sustainable global food security. *Potato Research*. 2014;57(3):185–99. doi:10.1007/s11540-014-9265-1
8. Tekalign T, Hammes PS. Growth and productivity of potato as influenced by cultivar and reproductive growth: II. Growth analysis, tuber yield and quality. *Scientia Horticulturae*. 2005;105(1):29–44. doi:10.1016/j.scienta.2005.01.021
9. Franke AC, Haverkort AJ, Steyn JM. Climate change and potato production in contrasting south african agro-ecosystems 2. assessing risks and opportunities of adaptation strategies. *Potato Research*. 2013;56(1):51–66. doi:10.1007/s11540-013-9229-x
10. Hernández Jiménez A, Pérez J, Bosch D, Castro N. Clasificación de los suelos de Cuba. Mayabeque, Cuba: Ediciones INCA; 2015. 93 p.

11. de Almeida FM, Arzuaga Sánchez J, Torres de la Noval W, Cabrera Rodríguez JA. Efectos de diferentes distancias de plantación y calibres de tubérculos-semilla sobre algunas características morfo-productivas de la papa en Huambo, Angola. *Cultivos Tropicales*. 2016;37(2):88–95.
12. Alvarado-Capó Y, Martín MC, Mena E, Suárez MA, Roque B, Pichardo T, et al. Efecto de *Bacillus* spp. sobre el crecimiento y rendimiento agrícola de plantas *in vitro* de papa cv. Romano en casa de cultivo. *Biotecnología Vegetal*. 2015;15(2):115–22.
13. Rojas Mercado LP, Seminario Cunya JF. Productividad de diez cultivares promisorios de papa chaucha (*Solanum tuberosum*, grupo Phureja) de la región Cajamarca. *Scientia Agropecuaria*. 2014;5(4):165–75.
14. Medina EL, Salvatierra CZ, Benavides MG, Rodríguez RS, Torres JC. Rendimiento comparativo de cuatro variedades nuevas de *Solanum tuberosum* L. “papa” en el anexo Chaquicocha, distrito Tayabamba, Pataz, La Libertad. *ARNALDOA*. 2015;20(1):155-170–170. doi:10.22497/142
15. Knowles LO, Knowles NR. Optimizing tuber set and size distribution for potato seed (*Solanum tuberosum* L.) expressing varying degrees of apical dominance. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2016;35(2):574–85. doi:10.1007/s00344-015-9562-1
16. Diestra Guevara E. Efecto de la coinoculación de *Rhizobium etli* y *Azotobacter chroococcum* sobre el crecimiento de *Solanum tuberosum* “papa” variedad Canchán en condiciones de laboratorio. [Internet] [Tesis de Diploma]. [Trujillo, Perú]: Universidad Nacional de Trujillo; 2014. 59 p. Available from: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4049/Diestra%20Guevara%20Eder%20Armando.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
17. Gil PT de, Fontes PCR, Cecon PR, Ferreira FA. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade da batata. *Horticultura Brasileira*. 2002;20(4):611–5. doi:10.1590/S0102-05362002000400020
18. Unno Y, Shinano T, Minamisawa K, Ikeda S. Bacterial community shifts associated with high abundance of *Rhizobium* spp. in potato roots under macronutrient-deficient conditions. *Soil Biology and Biochemistry*. 2015;80:232–6. doi:10.1016/j.soilbio.2014.10.002
19. Marouani A, Harbeoui Y. Eficiencia de uso de nitrógeno en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Acta Agronómica*. 2016;65(2):164–9. doi:10.15446/acag.v65n2.48200

20. Tein B, Kauer K, Eremeev V, Luik A, Selge A, Loit E. Farming systems affect potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber and soil quality. *Field Crops Research*. 2014;156:1–11. doi:10.1016/j.fcr.2013.10.012
21. Luna Murillo R, Espinosa Cunuhay K, Trávez Trávez R, Ulloa Méndez C, Espinoza Coronel A, Bejarano Albornoz A. Respuesta de variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) a la aplicación de abonos orgánicos y fertilización química. *Ciencia y Tecnología (Quevedo)*. 2016;9(1):11–6.
22. Abreu Cruz EO, González Oramas G, Liriano González R, Veliz Alonso JI, Ost P, Monzón Cepero Z. Respuesta del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) a la combinación del fertilizante ecológico HerbaGreen con fertilizante químico. *Centro Agrícola*. 2017;44(1):80–9.
23. Marín S, Bertsch F, Castro L. Efecto del manejo orgánico y convencional sobre propiedades bioquímicas de un andisol y el cultivo de papa en invernadero. *Agronomía Costarricense [Internet]*. 2017 [cited 2019 May 23]; doi:10.15517/rac.v41i2.31298
24. Reganold JP, Wachter JM. Organic agriculture in the twenty-first century. *Nature Plants*. 2016;2(2):15221. doi:10.1038/nplants.2015.221
25. Acuña I, Muñoz M, Sandaña P, Orena S, Bravo R, Kalazich J, et al. Manual Interactivo de la Papa INIA [Internet]. Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA); 2015 [cited 2019 Jun 25]. Available from: <http://manualinia.papachile.cl>
26. Martín Martín R, Jerez Mompie E. Efecto de las temperaturas en el rendimiento de la papa (*Solanum tuberosum* L.) variedad Romano. *Cultivos Tropicales*. 2017;38(1):75–80.
27. Hannapel DJ, Chen H, Rosin FM, Banerjee AK, Davies PJ. Molecular controls of tuberization. *American Journal of Potato Research*. 2004;81(4):263–74. doi:10.1007/BF02871768
28. Hernández-Rodríguez A, Rives-Rodríguez N, Acebo-Guerrero Y, Diaz-de la Osa A, Heydrich-Pérez M, Divan Baldani VL. Potencialidades de las bacterias diazotróficas asociativas en la promoción del crecimiento vegetal y el control de *Pyricularia oryzae* (Sacc.) en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Revista de Protección Vegetal*. 2014;29(1):1–10.

Original Article

## Selection of a promoting rhizobacteria of growth in papa (*Solanum tuberosum* L.)

Ing. Gedson Gervasio<sup>1</sup>

Dr.C. Eduardo Jerez-Mompie<sup>1\*</sup>

M.Cs. Belquis-Morales<sup>1</sup>

Dra.C. María Caridad-Nápoles<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700

\* Author for correspondence. [ejerez@inca.edu.cu](mailto:ejerez@inca.edu.cu)

### ABSTRACT

The use of plant growth promoting rhizobacteria has beneficial effects on crops, so the objective of this work was to select a strain of Rhizobium genus able to stimulate growth in potatoes. To this end, work was carried out under semicontrolled conditions and the use of two strains (C1: *Rhizobium etli* CE-3 and C2: *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001) as well as two doses of each (D1: 3 µL and D2: 6 µL) applied in the niche in which the tuber was placed at the time of planting. Through a completely randomized design, five treatments were distributed, including the control not inoculated and the use of strains and doses, with ten repetitions for each one. In any case no chemical fertilization was applied. Containers of six-liter capacity filled with red Ferralitic Eutric soil were used. The evaluations were made at 40 days after plantation and consisted in determining the height of the plants, the number of stems, the number of stolons emitted by tubers, the average number of leaves per stem, the leaf surface and the SPAD units determined in two moments. In all the evaluated variables, the strain *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001, was the one that favored the best result with significant differences respect to the control.

**Key words:** Rhizobium, height of the plant, number of stems, leaf area, stolons

## INTRODUCTION

The depletion of natural resources by the action of man in an excessive way, urges the use of new technologies to minimize the deterioration caused to the environment, hence, today, it is that they are largely friendly to the environment, in the control of pests and crop diseases and of the agro-ecosystems, in order to restore and maintain soil fertility.

Among these practices, the use of organic fertilizers and native microorganisms as group promoting rhizobacteria Plant Growth (PGPR, for its acronomyns) could be part of the effective solution in reducing the use of agrochemicals and fertility recovery of agricultural soils <sup>(1)</sup>.

PGPRs are soil microorganisms, usually bacteria and fungi, that are naturally associated with plant roots in a more or less intimate way; they directly or indirectly facilitate the availability of certain nutrients for plants, such as nitrogen, phosphorus and iron <sup>(2)</sup>, but not all contribute in the same way, their action has been proven in different crops <sup>(3)</sup> such as: wheat <sup>(4)</sup>, corn <sup>(5)</sup> and beans <sup>(6)</sup>, among others. These studies show the ability of the PGPR to increase growth and yield them, with less use of products agrochemicals, which avoids damages to the environment <sup>(3)</sup>.

Potato cultivation (*Solanum tuberosum* L.) has been developed and widely studied throughout the world, being considered one of the main foods for humans worldwide, surpassed only by rice, wheat and corn <sup>(7)</sup>.

The same authors consider that potato productions are high, but to achieve them it is necessary to use different products, usually of a chemical nature (fertilizers, pesticides, *etc.*), both to ensure adequate plant nutrition, and to control pests that reduce yields. It is also essential to promote adequate growth and development of plants, even when both are determined by genetic and environmental factors <sup>(8)</sup> and are the result of the interaction between photosynthesis, respiration, transport of assimilates, water relations and mineral nutrition; which translates to the irreversible increase in dry matter, volume, length or area, as result of division, expansion and differentiation <sup>(9)</sup>.

From the foregoing, the objective of the present work was to select a strain of the genus *Rhizobium* that stimulates the growth of potato plants.

## MATERIALS AND METHODS

The work was carried out in semi-controlled conditions at the National Institute of Agricultural Sciences (INCA), for which, in the first half of December, seed tubers obtained in the Romano variety country were planted, with a size of 35-45 mm.

A completely randomized design was used made, in which distributed the five treatments considered, they consisted of: one uninoculated control and inoculum with the use of two strains: C1 (*Rhizobium etli* EC-3) and C2: (*Bradyrhizobium elkani* ICA 8001) as well as two doses of each (D1: 3  $\mu$ L and D2: 6  $\mu$ L) which were determined from the mass of the seed tubers that were used in the planting, these were applied in the niche in which the tuber was placed at the time of planting. Each treatment featured 10 repetitions.

The containers, with a volume of 6 L, were filled with Eutric Red Ferralitic soil <sup>(10)</sup> and no fertilization of any kind was used. Soil moisture was maintained at maximum retention capacity by adding water lost by evapotranspiration, manually.

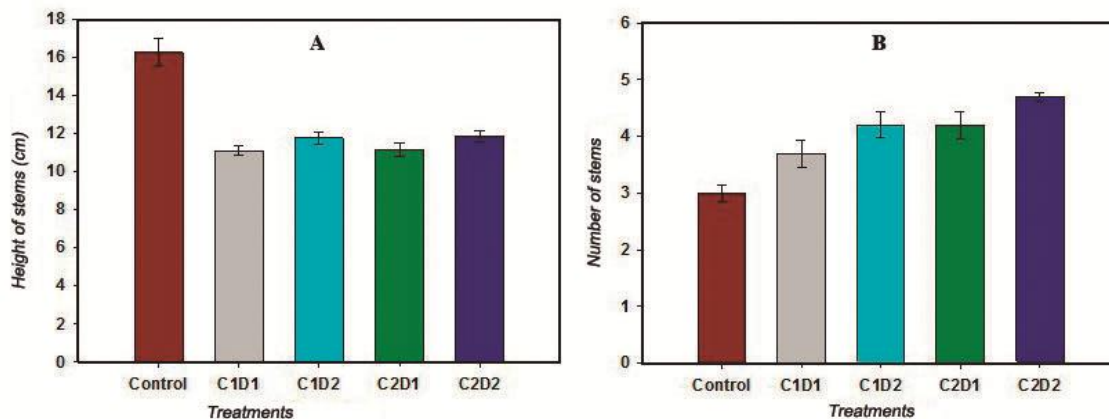
The evaluations made at 40 days after planting (DAP) consisted of analyzing the 10 plants of each of the treatments, to know the height of the plants (cm), the number of stems per plant, the amount of stolons that they had tubers per stem, the average number of leaves per stem, the leaf area in cm<sup>2</sup> from the linear measurements (length and width) of the leaves of each stem and the use of the formula previously established by regression analysis for this variety ( $y=LxA(0.495)+5.281$ ) where L represents the length of the leaf and A its width and finally, it was estimated in two moments of plant growth (31 and 38 DAP) the level of leaf chlorophyll in leaves, expressed in SPAD units, by using a portable meter (MINOLTA).

The data obtained were grafficated with the use of the SIGMA PLOT v.11 program and after knowing the confidence interval of the means the treatments were compared by t-Student at  $1-\alpha \leq 0.05$ , with the use of the STATGRAPHYCS program S v.5.0.

## RESULTS AND DISCUSSION

The height of the plant and the average number of stems per plant (A and B), respectively, is presented in Figure 1. For treatments were inoculated with strains and doses, values were minors without significant differences between them, although with respect to the control, where the plants reached a greater height with significant differences compared to the rest of the treatments.





The bar above means the confidence interval of the means at  $1-\alpha \leq 0.05$

**Figure 1.** Plant height A (in cm) and average number of stems per plant (B) in potato plants inoculated with two strains of rhizobia (C1: *Rhizobium etli* CE-3 and C2: *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001) and two doses of each (D1: 3  $\mu$ L and D2: 6  $\mu$ L )

In the case of the number of stems per plant these were significantly lower in the control, with respect to the inoculated plants. The higher dose (6  $\mu$ L) increased the number of stems in both strains, with significant differences from the lowest dose in each; but strain 2, which corresponds to *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001, gave the best result, only comparable with strain 1 (*Rhizobium etli* CE-3) when the highest dose was used.

According to the results, it is observed that there may be a close relationship between the height of the plants and the number of stems, because increasing these in the plant reduces the height, which among other factors, is related to the possibilities that it has the seed tuber to provide the new plant with its reserves, having to share them with a smaller amount of stems, these will be favored in their growth<sup>(11)</sup>.

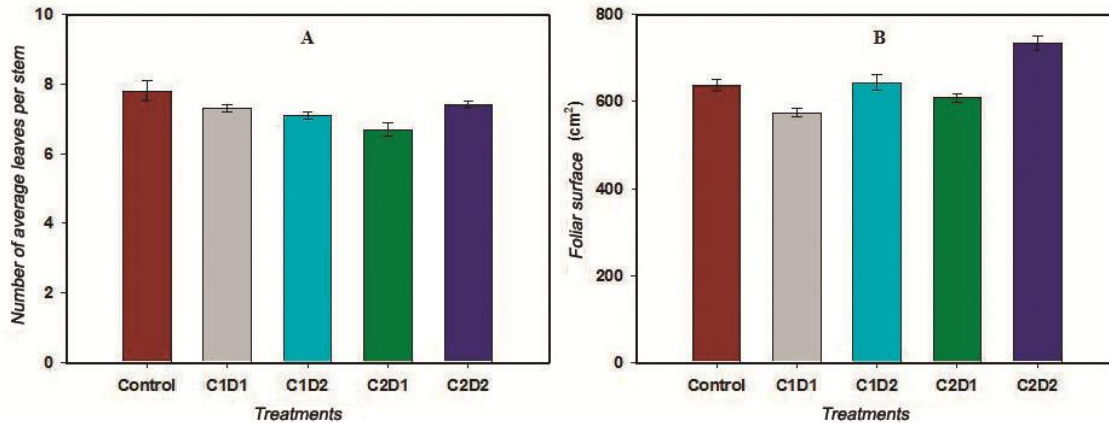
As for the height, it has been suggested that it depends largely on the density of stems, if it is low, then the plants reach a greater height<sup>(11)</sup> and vice versa. The effect of the use of growth-promoting microorganisms also plays an important role in this variable, as was the case with this work, since its beneficial effect has been proven in this regard, as well as in a work carried out in potatoes, but in the production of mini-tubers, the authors verified that the inoculation performed *in vitro* plants of potato cv. 'Romano' strains of bacteria, but the genus *Bacillus*, had positive influence on plant height and number of stems, while noting that this also depends on the strain used<sup>(12)</sup>. On the other hand, other authors pointed out that at least no product that stimulates sprouting is used<sup>(13)</sup>, no increase in the number of stems per plant

will be found, although the varietal difference <sup>(14)</sup> should not be ruled out. The management of the number of stems <sup>(15)</sup> will also have a marked influence on the size distribution of the tubers.

The average number of leaves per stem (A) and leaf area (B) occurs in Figure 2. While differences in the average number of leaves per stem not manifest between treatments except treatment in the strain 2 was applied, with the lowest dose, then this variable determinant in many cases the value of the leaf surface, wherein if differences between treatments were found the behavior of the latter, in terms of the magnitude achieved was the result of the average number of stems per plant, since there were differences in that variable, as already analyzed.

L to leaf area was greater in the treatment the plants were inoculated with the strain *Bradyrhizobium elkanii* ICA 8001, when the highest dose was applied (C2D2), with significant differences with the other treatments. Between the control treatment and the rest of the treatments, there were no significant differences, except with the treatment in which the lowest dose of the strain *Rhizobium etli* CE-3 was applied. It means that in the treatments inoculated with any of the strains used at the highest dose applied (6 µL) there were always significant differences in relation to the lower dose, which indicates that this is more suitable to be used in the culture that It has been studied.

The leaf surface is one of the important variables related to the studies of plant growth, since its magnitude is associated with the ability of the plant to perform the photosynthetic process, since there is a direct relationship in this regard. In works carried out where the effect of inoculation on plant growth has been evaluated, an increase in leaf surface values has been found for the specific case of the potato <sup>(16)</sup>, with respect to the control, although the strain of *Rhizobium* used it was not the same.



The bar above means the confidence interval of the means at  $1-\alpha \leq 0.05$

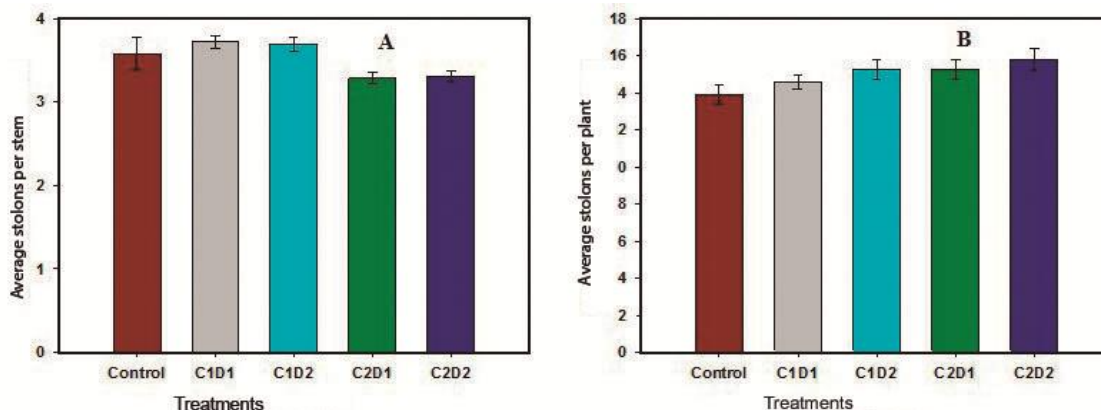
**Figure 2.** Average number of leaves per stem (A) and leaf area per plant (B) in potato plants inoculated with two strains of rhizobia (C1: *Rhizobium etli* CE-3 and C2: *Bradyrhizobium the Kani* ICA 8001) and two doses of each (D1: 3  $\mu$ L and D2: 6  $\mu$ L )

The leaf surface is one of the important variables related to the growth of plants, since its magnitude is associated with the ability of the plant to carry out the photosynthetic process, since there is a direct relationship in this regard. In works carried out where the effect of inoculation on plant growth has been evaluated, an increase in leaf surface values has been found for the specific case of the potato<sup>(16)</sup>, with respect to the control, although the strain of *Rhizobium* used it not was the same.

The evaluations of SPAD units at 30 (A) and 38 (B) DAP, are presented in Figure 3. The tendency in general was to find higher values with respect to the control in the plants that were inoculated, with significant differences regarding this treatment, except in the evaluation carried out at 38 days, where there were no significant differences between the control and the strain *Rhizobium etli* CE-3.

The values were lower at 38 days, perhaps because the nutritional deficiency became more evident when the plants reached a greater development and need for nutrients that had not been satisfied when fertilizer contributions were not made in the plantation, therefore, the supply to the plants for their nutritional needs they only depended on the contributions that the soil could make and on the beneficial effects that the growth promoting bacteria inoculated at the time of establishing the plantation. In this sense, strain 2 stands out, where the values were in eight higher units.

Higher values of SPAD units are related to higher chlorophyll contents, which ensures a greater capacity for carrying out the photosynthetic process, in turn, a better nutritional status of the plants <sup>(17)</sup>.



The bar above means the confidence interval of the means at  $1-\alpha \leq 0.05$

**Figure 3.** Units SPAD certain 30 (A) and 38 (B) DAP, in potato plants inoculated with two strains of rhizobio (C1: *Rhizobium etli* CE-3 and C2: *Bradyrhizobium elkanii* ICA 8001) and two doses of each (D1: 3  $\mu$ L and D2: 6  $\mu$ L)

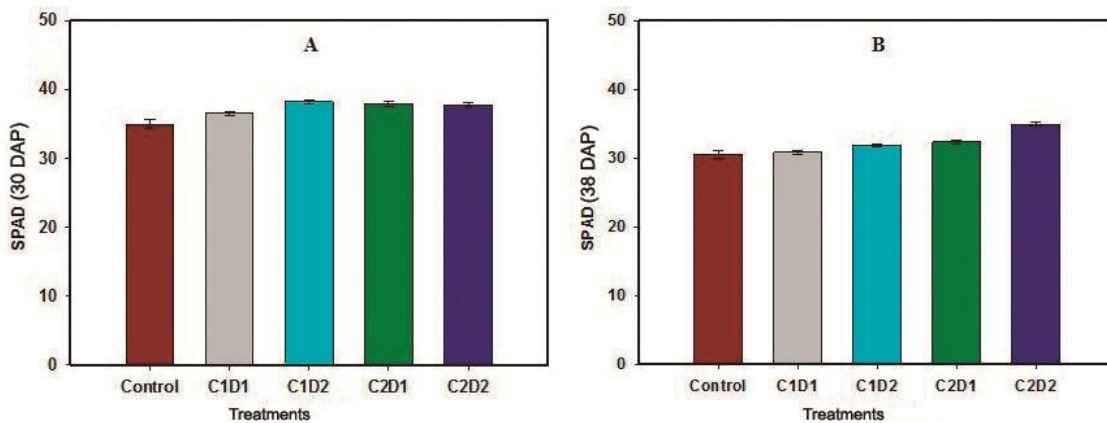
The presence of growth promoting bacteria by inoculation with strains of the genus *Rhizobium*, contributed to improve the nutritional status, which is related to a work in which to examine the rhizosphere of potato plants subjected to nutritional deficiency an increase in the number of *Rhizobium* species was found, which improved the nutritional status of the plants <sup>(18)</sup>, so it will be necessary to evaluate other strains of that genus.

On the other hand, it is noted that high doses of nitrogen <sup>(19)</sup> are used in potato cultivation in order to increase yields, which show a low rate of use of this nutrient and high nitrate content in the lower soil layers. It has also been found that traditional production systems, which are used amounts Elevate to s agrochemicals are causing damages in potato production <sup>(20)</sup>. Perhaps, as several authors point out <sup>(21-23)</sup>, the most convenient would be a mixture of both chemical and organic, thus reducing the former and contributing to the care of the environment. Appearance is that it has been stressed recently <sup>(24)</sup>.

When the end of the crop cycle was not reached, it was considered important to analyze the number of stolons that had already formed a tuber at the time of the evaluation, as an important part in the production of this crop, these results are presented in Figure 4.

As can be seen in the figure, the average number of stolons per stem (A) did not show differences between treatments, which are evidenced in the average per plant (B), all of which is closely related to the number of stems, aspect Already analyzed.

It is noted that the highest average stolons per plant, with significant differences from the control, was achieved with strain 2 and any of the doses used, similarly occurred with strain 1, but when the highest dose was used. Between the control and that strain at the lowest dose, no significant differences were detected. In this way, it can be ensured that the number of tubers produced per plant will be greater in the treatments that were inoculated. Increases in the number of average stolons per plant in plants that were inoculated with the highest dose, meant 10.1% in strain 1 and 13.7% in strain 2.



The bar above means the confidence interval of the means at  $1-\alpha \leq 0.05$

**Figure 4.** Assessment number stolons average per stem (A) and average per plant (B) at 38 DAP , in potato plants inoculated with two strains of rhizobio (C1: *Rhizobium etli* CE-3 and C2: *Bradyrhizobium elkanii* ICA 8001) and two doses of each one (D1: 3  $\mu$ L and D2: 6  $\mu$ L)

The tuberization process occurs during the vegetative period, in that period, under the soil surface, the stolon tips begin to widen, giving way to the formation of the tubers. This phenomenon occurs approximately 30 days after the emergence in early varieties, between 35 and 45 days for intermediate varieties, and between 50 and 60 days in those of late type<sup>(25)</sup>. Despite the prevailing climatic conditions in Cuba, the varieties used are mostly early, such is the case of the Romano variety used in this study<sup>(26)</sup>.

Phytohormones, besides the photoperiod and temperature, play a major role, as they regulate the morphological events tuberization activated at the apex of a stolon; high levels of gibberellins inhibit tuberization, while low levels promote it. Transcription factors are

proteins that bind to DNA to regulate gene activity and in some cases, to regulate hormone levels; several of these protein DNA ligatures are involved in the regulation of plant growth and the development of potato meristems, including tuber formation <sup>(27)</sup>.

The production of phytohormones by bacteria and their impact on root morphogenesis could largely explain the positive effects of diazotrophic bacteria on plant growth, as the number of radical hairs and lateral roots increases <sup>(28)</sup> but, at least in the literature consulted, nothing is indicated regarding the stimulation of tuberization, however, the beneficial effects that contribute to growth in general, also favor the development of other processes, even when they are not fully involved in them.

## CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

The results allowed us to verify that the use of the strain *Bradyrhizobium elkani* ICA 8001, with a dose of 6 µL per tuber, increased the number of stems per plant, the leaf surface and the number of stolons, given by the positive effect that it causes in the growth of different species. However, other strains of the same genus or another could be tested, which will also contribute to deepening aspects related to plant nutrition and the possible decrease in chemical fertilization, with the consequent decrease in environmental pollution, aspect Of great interest today.