

## Tolerancia de rizobios procedentes de nódulos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) frente a factores abióticos

Marisel Ortega García<sup>1</sup>, María Caridad Nápoles García<sup>2</sup>, Bernardo Dibut Álvarez<sup>3</sup> & Yoania Ríos Rocafull<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ORCID <https://orcid.org/0000-0002-8076-2675>, INIFAT, Dirección Científica, La Habana, Cuba, <sup>2</sup>ORCID <https://orcid.org/0000-0003-1413-1717>, INCA, La Habana, Cuba, <sup>3</sup>ORCID <https://orcid.org/0000-0002-5537-8591>, INIFAT, Departamento de Recursos Genéticos Microbianos y Productos Bioactivos, La Habana, Cuba, <sup>4</sup>ORCID <https://orcid.org/0000-0003-1774-0868>, INIFAT, Departamento de Recursos Genéticos Microbianos y Productos Bioactivos, La Habana, Cuba.

Citación: Ortega García, M., Nápoles García, M. C., Dibut Álvarez, B., & Ríos Rocafull, Y. (2023). Tolerancia de rizobios procedentes de nódulos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) frente a factores abióticos. *Agrisost*, 29, 1–8. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8321988>

Recibido: 23 mayo 2023

Aceptado: 19 julio 2023

Publicado: 6 septiembre 2023

Financiamiento: No se declara

Conflictos de interés: No se declaran conflictos de interés

Correo electrónico: [dir\\_cientifica@inifat.co.cu](mailto:dir_cientifica@inifat.co.cu), [mariselortega9@gmail.com](mailto:mariselortega9@gmail.com)

### Resumen

**Contexto:** El estrés abiótico altera los procesos fisiológicos y metabólicos de las plantas, por lo que se considera la causa central de las pérdidas de los cultivos, de ahí la necesidad de estudiar el efecto de microorganismos que contribuyan a contrarrestar estos efectos.

**Objetivo:** Seleccionar por su tolerancia frente a factores abióticos aislados de rizobios procedentes de nódulos del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) para contribuir a la adaptabilidad del cultivo ante los mismos.

**Métodos:** Se estudió la tolerancia frente a factores abióticos de once aislados de rizobios, provenientes de nódulos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Se caracterizó en condiciones in vitro su tolerancia frente a diferentes valores de pH, cloruro de sodio (NaCl), temperaturas y sequía.

**Resultados:** Se estudiaron once rizobios por su capacidad de tolerar diferentes niveles de pH, todos crecieron en un rango de 6 a 8s. De ellos, 4 aislados crecieron a pH 8,5 y a pH 9 solamente lograron crecer dos de ellos. A concentraciones de NaCl, crecieron todos a concentraciones entre 0,5 y 0,6 %, a partir de 0,7 % NaCl, solamente crecieron 7 de los aislados, solo dos de ellos crecieron a concentraciones entre 1 y 1,5 % NaCl y ninguno toleró el 2 % de NaCl. Referente a la tolerancia a los diferentes rangos de temperatura, todos crecieron a 35 °C, de ellos el 63 % creció a 36 °C y solamente dos aislados crecieron a 37 °C. Solo un aislado toleró entre 38 y 39 °C y a 40 °C ninguno mostró crecimiento. La tolerancia a condiciones de sequía, solamente dos aislados crecieron en presencia de un 3% PEG 6000.

**Conclusiones:** Procedentes de nódulos del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) se evaluaron algunos rizobios con tolerancia frente a diferentes niveles de pH, cloruro de sodio (NaCl), temperaturas y sequía, lo que permitirá contribuir a la adaptabilidad del cultivo ante estos efectos en las condiciones de Cuba.

**Palabras clave:** *factores abióticos, rizobios, tolerancia.*

## Tolerance of rhizobia from chickpea nodules (*Cicer arietinum* L.) against abiotic factors

### Abstract

**Context:** The stress abiotic alters the physiologic and metabolic processes of the plants, for what is considered the central cause of the losses of the cultivations, of there the necessity to study the effect of microorganisms that you/they contribute to counteract these effects.

**Objective:** To select for their tolerance in front of factors isolated abiotic of rhizobia coming from nodules of the cultivation of the chickpea (*Cicer arietinum* L.) to contribute to the adaptability of the cultivation before the same ones.

**Methods:** The tolerance was studied in front of isolated factors abiotic of eleven of rhizobia from chickpea nodules (*Cicer arietinum* L.). it was characterized under conditions in vitro its tolerance in front of different pH levels, chloride of sodium (NaCl), temperatures and drought.

**Results:** Eleven rhizobias was studied by its capacity to tolerate different pH levels, all grew in a range from 6 to 8. Of them, 4 isolated 8,5 grew to pH and to pH 9 were only able to grow two of them. To concentrations of NaCl, all grew to concentrations between 0,5 and 0,6%, starting from 0,7% NaCl, 7 of the isolated, alone only grew two of them they grew to concentrations between 1 and 1,5% NaCl and none tolerated 2% of NaCl. With respect to the tolerance to the different ranges of temperature, all grew to 35 °C, of them 63% grew to 36 °C and only two isolated they grew to 37 °C. Alone an isolated one tolerated between 38 and 39 °C and to 40 °C none showed growth. The tolerance a conditions of drought, only two isolated grew in presence de 3% PEG 6000.

**Conclusions:** Coming from nodules of the cultivation of the chickpea (*Cicer arietinum* L.) some rizobios was evaluated with tolerance in front of different pH levels, chloride of sodium (NaCl), temperatures and drought, what will allow contributing to the adaptability of the cultivation before these effects under the conditions of Cuba.

**Key words:** *factors abiotic, rhizobia, tolerance.*

## Introducción

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) se destaca por ser una especie de interés para el consumo humano y animal (Apáez et al., 2020), con un contenido proteico de alrededor del 20 %, elevada cantidad de carbohidratos (40 %), de alta digestibilidad, es rico en ácidos grasos insaturados y posee pocos elementos antinutritivos. Además, a su consumo se le confiere un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades crónicas como las cardiovasculares, diabetes, algunos tipos de cáncer y problemas digestivos (Hidalgo et al., 2018).

En Cuba, ante la necesidad de diversificar especies de importancia agrícola, en especial de granos, y de disminuir los costos de producción, el garbanzo cobra cada vez mayor importancia, no solo por su valor nutritivo y amplia aceptación popular, sino porque posee otros atributos favorables como la tolerancia a la sequía y a las altas temperaturas (Vargas-Blandino & Cárdenas-Travieso, 2021). Ello lo convierte en un cultivo de interés como parte de la estrategia para mitigar los efectos del cambio climático en la producción de alimentos y por su contribución a la soberanía alimentaria en el país.

No obstante, existen diferentes factores ambientales que alteran los procesos fisiológicos y metabólicos de las plantas, como el estrés abiótico, el que se considera la causa central de la pérdida de más de 50 % de los principales cultivos de interés agrícola en el mundo y afecta a más de 95 % de la superficie agrícola, situación se agrava con los efectos del cambio climático (Méndez & Vallejo, 2019).

Aunque se conoce que las interacciones simbióticas incrementan el crecimiento, la biomasa y la disponibilidad de micro-elementos como hierro (Fe) y fósforo (P), bajo condiciones de adversas

(Swarnalakshmi et al., 2022). Por lo cual, el estudio de rizobios adaptados a condiciones estresantes, lleva implícito no solamente los conocimientos que pueden aportar acerca de su complejidad biológica, sino además permite seleccionar microorganismos en simbiosis con leguminosas con plantas cultivadas en condiciones estresantes (Méndez & Vallejo, 2019).

Aún más, si se conoce que, en un sistema agrícola, los microorganismos desempeñan diversas funciones que responden a la composición biológica del suelo, a la competencia entre ellos y al reconocimiento entre la planta y los microorganismos. De igual modo, las propiedades físicoquímicas del suelo y el clima influyen en el tipo de interacciones y la determinación de los efectos determinantes en el desarrollo de las plantas (Basu et al., 2021).

Además de los factores ambientales, la competitividad de la familia de los rizobios en la formación de nódulos y la efectividad de las plantas hospedadoras de estos microorganismos juegan un papel fundamental en la fijación del N<sub>2</sub> (Velandia et al, 2022). Esta familia posee diversos mecanismos que estimulan el desarrollo vegetal, tales como la fijación del nitrógeno atmosférico, producción de fitohormonas, solubilización de fosfatos, síntesis de sideróforos que capturan el hierro y lo pueden suministrar directamente a la planta. Pero además muchas de ellas producen ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) desaminasa, enzima que reduce los niveles de etileno en la raíz, incrementando su longitud y crecimiento y mejora la tolerancia a la salinidad, sequía, entre otros (Marquina et al., 2018).

En investigaciones recientes se ha demostrado que la inoculación de leguminosas con rizobios en condiciones de estrés hídrico y salino produce disminución de la producción de etileno, aumenta la

tolerancia de las plantas al estrés e incrementa la nodulación y la fotosíntesis (Khan et al. 2019).

Sobre las ventajas de emplear rizobacterias y su aplicación para incrementar la productividad de diferentes cultivos en condiciones de estrés ambiental existen numerosos trabajos (Bécquer, 2022). Principalmente los que se aislaron en agroecosistemas afectados por diferentes tipos de estrés.

De ahí que estudiar la simbiosis de rizobios tolerantes a estas condiciones, pudiera mejorar la productividad del cultivo del garbanzo. Por lo que el trabajo tuvo como objetivo estudiar la tolerancia de 11 nuevos aislados de rizobios procedentes de nódulos del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) frente a factores abióticos como rangos de temperatura (35 – 40 °C), crecimiento a niveles de pH (6- 9,5), concentraciones de NaCl (0,5 y 2 %) y tolerancia a condiciones de sequía, presencia de concentraciones entre 1 y 3% de PEG 6000.

## Materiales y Métodos

**Material biológico:** En el estudio se utilizaron once aislados de rizobios, provenientes de nódulos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Las muestras se manipularon en el Laboratorio de Conservación de Bacterias del Departamento de Recursos Genéticos Microbianos y Productos Bioactivos, del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt”, INIFAT.

**Tolerancia a diferentes valores de pH, cloruro de sodio (NaCl), temperatura y sequía:** placas *Petri* con medio de cultivo LMA (Vincent, 1970) ajustado a diferentes valores de pH (3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; 8; 8,5; 9 y 9,5) con HCl 1N ó NaOH 1N (Bécquer et al., 2016), se sembraron con los aislados mediante una estría central y posteriormente se incubaron a 30 °C. Se observó su crecimiento cada 24 horas durante 12 días (Gómez et al., 2017). De forma similar se determinó tolerancia a la salinidad, se suplementó con distintas concentraciones de NaCl (0,5, 6, 0,7 0,8, 0,9, 1, 1,5 y 2 %). Para las diferentes temperaturas, los aislados sembrados en el medio LMA se incubaron a los valores de temperatura: 25; 26; 27; 28; 29; 30; 31; 32; 33; 34; 35; 36; 37; 38; 39 y 40 °C. En todos los casos se consideró como respuesta positiva el crecimiento microbiano sobre el medio y como resultado negativo, la ausencia de este (Gómez et al., 2017). La tolerancia a condiciones de sequía se evaluó a partir del crecimiento de los microorganismos en el medio Caldo Nutriente (Rodríguez & Zhurbenko, 2018) con diferentes concentraciones de polietilenglicol (PEG 6000), a saber: 1%; 2% y 3%.

**Diseño experimental y análisis estadístico:** todos los experimentos se organizaron bajo un Diseño

Completamente Aleatorizado, con cinco réplicas por cada aislado. Se consideró como respuesta positiva el crecimiento del microorganismo en todas las réplicas evaluadas.

## Resultados y Discusión

El análisis del crecimiento de los rizobios seleccionados en diferentes niveles de pH, mostró que todos lograron crecer en un rango de 6 a 8.

De ellos, 4 aislados crecieron a pH 8,5 y a pH 9 solamente lograron crecimiento los aislados R1 y R3, resultados que se aprecian en la tabla 1.

**Tabla 1. Capacidad de crecimiento de los aislados a diferentes niveles de pH**

Aislados	Niveles de pH								
	pH 6	pH 6,5	pH 7	pH 7,5	pH 8	pH 8,5	pH 9	pH 9,5	
<b>R1</b>	+	+	+	+	+	+	+	-	
<b>R2</b>	+	+	+	+	+	-	-	-	
<b>R3</b>	+	+	+	+	+	+	+	-	
<b>R1N</b>	+	+	+	+	+	-	-	-	
<b>R8</b>	+	+	+	+	+	-	-	-	
<b>R9</b>	+	+	+	+	+	+	-	-	
<b>R13</b>	+	+	+	+	+	-	-	-	
<b>R17</b>	+	+	+	+	+	-	-	-	
<b>R19</b>	+	+	+	+	+	-	-	-	
<b>R27</b>	+	+	+	+	+	-	-	-	
<b>R29</b>	+	+	+	+	+	+	-	-	

Crecimiento (+) ausencia de crecimiento (-)

Estos aspectos son importantes para los rizobios, ya el pH es vital para las especies que forman nódulos, ya que estas bacterias necesitan un pH entre 4,5 y 9,6 para lograr su reproducción en el suelo (Gómez et al., 2017). Resultados similares se obtuvieron al evaluar aislados de *Rhizobium* procedentes de frijol común, donde se afirma que los aislados de crecimiento rápido pueden desarrollarse en rangos superiores a pH 5 (Andrews & Andrews, 2017). El pH continúa un indicador de gran importancia, ya que en condiciones de suelo ácido, este puede limitar el desarrollo de las comunidades de rizobios en la rizosfera y conspira con la capacidad de infectar la planta y de expresar la nodulación (Moreno et al., 2018). Estos temas son necesarios a tener en cuenta, ya que pudieran indicar la presencia de diferentes mecanismos de los rizobios que le permitan no solo sobrevivir, sino además, adaptarse y competir en estas condiciones (Santillana, 2021).

Una posible explicación sobre la tolerancia a la acidez o alcalinidad de estos microorganismos se vincula con la capacidad de los mismos para mantener el pH celular interno cerca de la neutralidad. Lo que podría estar relacionado con la exclusión de protones, el aumento en la capacidad del tampón citoplasmático o el mantenimiento de altas

concentraciones de K y glutamato (Gómez et al., 2017).

Para la mayoría de los rizobios se describe que crecen en valores de pH cercanos a la neutralidad (Bécquer et al., 2017). Sin embargo, se ha demostrado que algunas cepas de este grupo de microorganismos pueden tolerar intervalos que oscilan desde 3,5 hasta 9 (Gómez et al., 2017).

Otro aspecto que resulta interesante estudiar, es la tolerancia a diferentes niveles de sal. En la tabla 2 se observa el comportamiento de los aislados a las diferentes concentraciones de NaCl. Se muestra como todos los aislados lograron crecer a concentraciones entre 0,5 y 0,6 % de NaCl, pero a partir de 0,7 % NaCl, se observa como el crecimiento es mucho más limitado, solamente crecieron 7 de ellos, tendencia que decrece a medida que aumentan las concentraciones de NaCl. Se destacan por crecer en concentraciones entre 1 y 1,5 % de NaCl los aislados R1 y R3. No obstante ninguno de los evaluados toleró el 2 % de NaCl. Este resultado es muy importante, dada la concordancia de los resultados *in vitro*, con los que muestran los microorganismos en su ambiente natural (Bécquer, 2022).

Los resultados coinciden con los obtenidos por Bécquer, (2022) que manifiesta que los rizobios usualmente no se desarrollan a concentraciones superiores al 2 % de NaCl y que la tolerancia es distintiva para las diferentes especies de este grupo microbiano. También son similares a lo reportado en la literatura, donde se señala que el crecimiento bacteriano disminuye al aumentar la cantidad de sal en el medio y puede influir en la simbiosis rizobios-leguminosa, afectando el crecimiento y la supervivencia de los rizobios en el suelo, restringiendo la colonización radical; además, ejerce una influencia negativa, en el incremento del número y la masa de los nódulos obtenidos por planta (Fuskah et al., 2019).

De igual forma, Khan et al., (2019) reportan efectos favorables en el cultivo del garbanzo sembrado en suelos salinos, al ser inoculado con *Rhizobium*. En este caso se obtienen aumentos significativos de la nodulación, el crecimiento, y el rendimiento del cultivo por el efecto de la biofertilización. Se describe que estos efectos pueden deberse a que la inoculación bacteriana con *Rhizobium* estimuló el crecimiento de las raíces y la formación del nódulos por la habilidad del mismo para producir fitohormonas encargados de lograr estos resultados en agroecosistemas con altos niveles de sal.

**Tabla 2. Capacidad de crecimiento de los aislados a diferentes concentraciones de NaCl**

Aislados	Concentraciones de NaCl							
	0,5 %	0,6 %	0,7 %	0,8 %	0,9 %	1 %	1,5 %	2 %
R1	+	+	+	+	+	+	+	-
R2	+	+	+	+	-	-	-	-
R3	+	+	+	+	+	+	+	-
R1N	+	+	+	-	-	-	-	-
R8	+	+	-	-	-	-	-	-
R9	+	+	-	-	-	-	-	-
R13	+	+	+	+	+	-	-	-
R17	+	+	+	+	-	-	-	-
R19	+	+	+	-	-	-	-	-
R27	+	+	-	-	-	-	-	-
R29	+	+	-	-	-	-	-	-

R1	+	+	+	+	+	+	+	-
R2	+	+	+	+	-	-	-	-
R3	+	+	+	+	+	+	+	-
R1N	+	+	+	-	-	-	-	-
R8	+	+	-	-	-	-	-	-
R9	+	+	-	-	-	-	-	-
R13	+	+	+	+	+	-	-	-
R17	+	+	+	+	-	-	-	-
R19	+	+	+	-	-	-	-	-
R27	+	+	-	-	-	-	-	-
R29	+	+	-	-	-	-	-	-

Crecimiento (+) ausencia de crecimiento (-)

La salinidad también provoca efectos negativos en el crecimiento de otras leguminosas y en la multiplicación de microorganismos como los rizobios. Investigaciones previas demostraron la disminución tanto del número como del tamaño de los nódulos en plantas de caupí (*Vigna unguiculata*), al incrementar el contenido de NaCl en el sustrato empleado (Al-Saedi et al. 2016).

De igual forma, la salinidad disminuye la colonización de la rizosfera por los rizobios, pues inhibe la síntesis de glucanos, lipopolisacáridos (LPS) y exopolisacáridos, moléculas superficiales de la bacteria que son esenciales para su interacción con la planta (Tewari & Sharma 2020). Estos eventos producen al igual que se describe en estudios anteriores la disminución del número y la masa de los nódulos, pero además de la síntesis de la leghemoglobina y de la actividad de la nitrogenasa, aspectos de vital importancia para en el proceso de fijación biológica del nitrógeno (Sunita et al. 2019).

Se plantea de igual forma, que los microorganismos halófilos pueden producir enzimas, sintetizar exopolisacáridos, fitohormonas y compuestos quelantes, que posibilitan el crecimiento de algunas plantas en estos ambientes. Contribuyen así mismo, con la desalinización de estos suelos y muestran gran capacidad de adaptación y potencial para utilizados en diversos bioprocesos (Guevara-Luna et al., 2020). Además, es probable que la mitigación del estrés salino por las PGPB, que son halo tolerantes, involucre una acción que se relaciona en tres niveles, como son la supervivencia de la bacteria por sí misma en un ambiente hiperosmótico, la inducción de mecanismos tolerantes a la sal en las plantas y la mejora de la calidad del suelo mediante diversos mecanismos (Kumar-Arora et al., 2020).

Sobre los rizobios como familia, se describe que poseen grandes bondades, ya que entre otras cosas son bacterias formadoras de microcolonias o biopelículas. Las biopelículas les permiten a las bacterias del suelo colonizar los habitats que las rodean, y sobrevivir a los tipos de estrés más comunes como son la desecación, la limitación de nutrientes, entre otros (Santillana, 2021). Por esta razón evaluar su tolerancia a diferentes estreses

puede ser un indicador útil para seleccionar rizobacterias con estas potencialidades (Franzini et al. 2019).

Referente a la tolerancia de los aislados de rizobios a los diferentes rangos de temperatura, en la tabla 3 se observa claramente que todos crecieron a 35 °C, de ellos el 63 % creció a 36 °C y solamente los aislados R1 y R3 crecieron a 37 °C.

La cepa R3 mostró que puede crecer a 38 °C, a los 39 °C y 40 °C no creció ninguno de los aislados en estudio. Estas pruebas permiten constatar que la R-3 tiene mayor tolerancia a altas temperaturas, lo que le confiere potencialidades como biofertilizante, mucho más en las condiciones edafoclimáticas que enfrenta el país en la actualidad.

**Tabla 3. Capacidad de crecimiento de los aislados frente a diferentes niveles de temperatura**

Aislados	Rangos de temperatura					
	35 °C	36 °C	37 °C	38 °C	39 °C	40 °C
R1	+	+	+	-	-	-
R2	+	+	-	-	-	-
R3	+	+	+	+	-	-
R1N	+	+	-	-	-	-
R8	+	-	-	-	-	-
R9	+	+	-	-	-	-
R13	+	+	-	-	-	-
R17	+	-	-	-	-	-
R19	+	-	-	-	-	-
R27	+	-	-	-	-	-
R29	+	+	-	-	-	-

Crecimiento (+) ausencia de crecimiento (-)

Otras investigaciones han arrojado resultados similares a los alcanzados en el presente estudio e incluso superiores, donde aislados de nódulos de *Centrosema* spp. toleraron hasta 40 °C de temperatura (Bécquer et al., 2016), mientras que otros asociados a *Vigna unguiculata* toleraron hasta 45 °C (Gómez et al., 2017), los que sugieren una adaptación para estos microorganismos frente a ambientes con altas temperaturas, características que coinciden con las áreas de procedencia de los mismos. Algo similar pudo suceder con los aislados del presente estudio, todos crecieron a 35 °C, resultados que sugieren una adaptación a las altas temperaturas.

La tolerancia de algunas cepas a diferentes pH y temperaturas, puede favorecer su multiplicación en la rizosfera y contribuir a una mayor colonización de la especie, y con ello, a su éxito como bacteria promotora del crecimiento vegetal. Referente a ello, autores como Moreno et al. (2018) señalaron que estos factores de supervivencia, persistencia y competitividad, le confieren a los rizobios mayores posibilidades de sobrevivir y competir con otras

bacterias del suelo, lo que favorece la colonización de las raíces de las leguminosas y la fijación de nitrógeno.

El otro indicador evaluado para complementar la caracterización de los rizobios fue la tolerancia a condiciones de sequía.

Como se puede apreciar en la Tabla 4, todos los aislados crecieron a concentraciones de 1 % en presencia de PEG 6000 en el medio de cultivo. Al 2 % solamente tres de ellos y al 3% solo dos (R-1 y R-3), los que mostraron una mayor turbidez en el medio de cultivo con esta concentración de PEG 6000 después de 72 horas de incubación, lo que denota un mayor crecimiento del microorganismo y, por lo tanto, mayor tolerancia a esta condición de estrés.

**Tabla 4. Capacidad de crecimiento de las cepas de rizobios en la tolerancia a condiciones de estrés abiótico en presencia de polietilenglicol (PEG 6000)**

Aislados	Concentración de PEG 6000		
	1 %	2 %	3 %
R1	+	+	+
R2	+	-	-
R3	+	++	+
R1N	+	-	-
R8	+	-	-
R9	+	-	-
R13	+	-	-
R17	+	-	-
R19	+/-	+/-	-
R27	+	-	-
R29	+	-	-

**Leyenda:** -: no presencia de crecimiento; +/-: poco crecimiento; +: crece; ++ abundante crecimiento

Para la selección de germoplasma vegetal tolerante a condiciones de sequía se emplean diferentes sustancias osmotolerantes que disminuyen el potencial osmótico en el medio de cultivo donde son incorporadas, retienen el agua y, por lo tanto, dificultan su absorción. Sobresalen dentro de ellas el manitol, el sorbitol, la sacarosa y el polietilenglicol, siendo este último uno de los compuestos más empleados (Moreno-Bermúdez et al., 2017).

En ensayos con material vegetal, como, por ejemplo, variedades de plátano (*Musa* sp.), la concentración mínima de PEG 6000 para generar estrés por déficit hídrico es 3%, afectándose el crecimiento de las plántulas bajo condiciones de cultivo *in vitro* al incrementar el porcentaje de PEG adicionado al medio de cultivo (Moreno-Bermúdez et al., 2017). Se debe destacar que esta concentración coincide con la máxima evaluada en el estudio y también se puede considerar un criterio de selección para este fin.

Al evaluar la inoculación con PGPB de dos genotipos de garbanzo en condiciones de estrés por sequía, se obtuvieron los mejores resultados en el contenido relativo de agua en las hojas, mayor biomasa en hojas y tallos, así como mayor acumulación de proteína, azúcares y compuestos fenólicos en las plantas inoculadas con respecto a las testigos (Khan et al., 2019).

En otros cultivos de leguminosas de grano como, *Vigna mungo* L. y *Pisum sativum* L., (Saikia et al., 2018) encontraron que los niveles de prolina se incrementaron significativamente, al inocular estas plantas con un consorcio microbiano formado por diferentes PGPB.

Por todos estos aspectos, evaluar la integralidad de estos aislados constituye una herramienta factible que contribuye a la selección de microorganismos promisorios para continuar investigaciones donde su aplicación favorezca el establecimiento de las plantas bajo diferentes condiciones de estrés. Si se tiene en cuenta, además, que la mayor parte de los aislados seleccionados por su integralidad toleraron varias condiciones de estrés, por lo que se pueden considerar como aislados con un uso potencial en el sector agrícola cubano en los escenarios actuales y futuros en cuanto a clima. Sería interesante en un futuro, evaluar el efecto de su aplicación sobre las especies vegetales bajo condiciones de estrés en sus escenarios productivos.

La tolerancia de algunas cepas a diferentes estreses, puede favorecer su multiplicación en la rizosfera y contribuir a una mayor colonización de la especie, y con ello, a su éxito como bacteria promotora del crecimiento vegetal. Referente a ello, autores como Moreno et al. (2018), señalaron que factores de supervivencia, persistencia y competitividad, le confieren a los rizobios mayores posibilidades de sobrevivir y competir con otras bacterias del suelo, lo que favorece la colonización de las raíces de las leguminosas y la fijación de nitrógeno atmosférico (Cruz et al., 2019).

Autores como Guzmán & Montero, (2021), describen la importancia de las interacciones que existen entre las plantas y microorganismos, a través de la simbiosis, en diversos tipos de suelos, donde estos, contribuyen al aumento de la producción de cultivos agrícolas a través de la FBN. Se conoce que la distribución de las bacterias de los suelos, en los diferentes ecosistemas, es variables, en función de la presencia de las especies agrícolas cultivadas y su biogeografía, en relación a los suelos que no se emplean para fines agrícolas.

En este estudio se demuestra el gran potencial que tienen las rizobacterias, especialmente los rizobios, lo que permite discernir entre las que crecen en amplio rango de condiciones ambientales y las que no, para seleccionarlas como posibles inoculantes y ser

probadas en campo de acuerdo a las características que presenten.

De forma general en el estudio se destacaron los aislados R1 y R3 por su potencial para desarrollarse a diferentes condiciones estresantes como altas temperaturas, diferentes rangos de pH, salinidad y sequía. No obstante, resulta esencial para este tipo de estudio comprobar el efecto de estos microorganismos en interacción con el cultivo del garbanzo para proponer su uso como inoculantes para los suelos cubanos.

## Conclusiones

Procedentes de nódulos del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) se evaluaron algunos rizobios con tolerancia frente a diferentes niveles de pH, cloruro de sodio (NaCl), temperaturas y sequía lo que permitirá contribuir a la adaptabilidad del cultivo ante estos efectos en las condiciones de Cuba.

## Contribución de los autores

Marisel Ortega García: planeación de la investigación, elaboración de la plantilla, análisis de resultados, redacción del artículo, revisión final.

María Caridad Nápoles García: planeación de la investigación, elaboración de la plantilla, análisis de resultados, redacción del artículo, revisión final.

Bernardo Dibut Álvarez: análisis de resultados, redacción del artículo, revisión final.

Yoania Ríos Rocafull: análisis de resultados, redacción del artículo, revisión final.

## Conflictos de interés

No se declaran

## Agradecimientos

Los autores agradecen al proyecto Estudio de la diversidad de rizobios asociados a legumbres para la adaptación al cambio climático en agroecosistemas de Cuba (P211LH005-036), del Programa Nacional Uso sostenible de los componentes de la Diversidad Biológica en Cuba, por el soporte financiero para realizar la investigación.

## Referencias

Andrews, M., & Andrews, M. E. (2017). Specificity in Legume-Rhizobia Symbioses. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4),705. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18040705>

- Al-Saedi, S. A., Razaq, I. B., & Ali, N. A. (2016). Utilization of 15N dilution analysis for measuring efficiency of biological nitrogen fixation under soil salinity stress. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 1468-1479.
- Apáez, M., Escalante, J. A. S., Apáez, P., & Álvarez, J. C. (2020). Producción, crecimiento y calidad nutricional del garbanzo en función del nitrógeno y fósforo. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas*, 11(6), 1273-1284. <http://dx.doi.org/10.29312/remexca.v11i6.2226>
- Cruz Barrera, M., Jakobs-Schoenwandt, D., Gómez, M. I., Becker, M., Patel, A. V., & Ruppel, S. (2019). Salt stress and hydroxyectoine enhance phosphate solubilisation and plant colonization capacity of *Kosakonia radicincitans*. *Journal of Advanced Research*, 19, 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.012>
- Basu, A., Prasad, P., Das, S.N., Kalam, S., Sayyed, R.Z., Reddy, M.S., & El Enshasy, H. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: Recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*, 13 (3), 1140. <https://doi.org/10.3390/su13031140>
- Bécquer Granados, C. J. (2022). Las rizobacterias y su contribución a la tolerancia de las plantas a la sequía y a la salinidad. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 56(2), e06. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2079-34802022000200006&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2079-34802022000200006&lng=es&tlng=es)
- Bécquer, C. J., Galdo, Y., Mirabal, A., Quintana, M., & Puentes, A. (2017). Rizobios aislados de leguminosas forrajeras de un ecosistema ganadero árido de Holguín, Cuba. Fase II: tolerancia a estrés abiótico y producción de catalasa. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 51 (1). <https://cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/692>
- Bécquer, C.J., Galdo, Y., Ramos, Y., Peña, M.D., Almaguer, N., Peña, Y.F., Mirabal, A., Quintana, M., & Puentes, A. (2016). Rhizobia isolated from forage legumes of an arid cattle rearing ecosystem in Holguín, Cuba. Morpho-cultural evaluation and nodulation (phase I). *Cuban Journal of Agricultural Science*, 50(4), 1-11. <http://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/665>
- Rodríguez Martínez, C., & Zhurbenko, R. (2018). *Manual de Medios de Cultivo*. Centro Nacional de Biopreparados, BIOCEN. <https://www.biocen.cu/wp-content/uploads/2021/05/Manual-MC-2018.pdf>
- Franzini, V.I., Azcón, R., Ruiz-Lozano, J.M., & Aroca, R. (2019). Rhizobial symbiosis modifies root hydraulic properties in bean plants under non-stressed and salinity-stressed conditions. *Planta*, 249(4), 1207-1215. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-03076-0>
- Fuskhah, E., Purbajanti, E. D., & Anwar, S. (2019). "Test of the resistance of rhizobium bacteria to salinity for the development of food legume plants in coastal areas". *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 250(1), 012044. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/250/1/012044>
- Gómez Padilla, E., Ruiz-Díez, B., Fajardo, S., Eichler-Loebermann, B., Samson, R., Van Damme, P., López-Sánchez, R., & Fernández-Pascual, M. (2017). Caracterización de rizobios aislados de nódulos de frijol caupí, en suelos salinos de Cuba. *Cultivos Tropicales*. 38(4), 39-49. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v38n4/ctr09417.pdf>
- Guevara-Luna J, Arroyo-Herrera I, Bahena-Osorio Y, Román-Ponce B, Vásquez-Murrieta, M. S. (2020). Suelos salinos: fuente de microorganismos halófilos asociados a plantas y resistentes a metales. *Alianzas y Tendencias BUAP*, 5(17), 29–51. <https://www.aytbuap.mx/publicaciones#h.6kyyw9kwyjh3>
- Guzmán Duchén, D., & Montero Torres, J. (2021). Interacción de bacterias y plantas en la fijación del nitrógeno. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales, La Paz*, 8(2), 87-101. <https://doi.org/10.53287/uyxf4027gf99e>
- Hernández, I., Estévez, Susana L., Peña, Maida D., & Nápoles, María C., (2020). Selection of promising rhizobia to inoculate herbaceous legumes in saline soils. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 54(3), 435-450. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2079-34802020000300435&lng=es&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2079-34802020000300435&lng=es&tlng=en)
- Hidalgo, M., Rodríguez, V., & Porrás, O. (2018). Una mirada actualizada de los beneficios fisiológicos derivados del consumo de legumbres. *Revista Chilena de Nutrición*, 45, 32-44. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182018000200032>
- Khan, N., Bano, A., & Babar, M. A. (2019). Metabolic and physiological changes induced by plant growth regulators and plant growth promoting rhizobacteria and their impact on drought tolerance in *Cicer arietinum* L. *PLoS One*, 14(3), e0213040,

- <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213040>
- Kumar-Arora, N., Tahmish, F., Mishra, J., Mishra, I., Verma, S., Verma, R., Verma, M., Bhattacharya, A., Verma, P., Mishra, P., & Bharti, Ch. (2020). Halo-tolerant plant growth promoting rhizobacteria for improving productivity and remediation of saline soils. *Journal of Advanced Research*, 26, 69-82. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.07.003>
- Marquina, M. E., Ramírez, Y., & Castro, Y. (2018). Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón *Capsicum annuum* L. var. Cacique Gigante. *Bioagro*, 30(1), 3-16. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-33612018000100001&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612018000100001&lng=es&tlng=es)
- Méndez Espinoza, C., & Vallejo Reyna, M. A. (2019). Mecanismos de respuesta al estrés abiótico: hacia una perspectiva de las especies forestales. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10 (56), 33-64. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.567>
- Moreno, A., García, V., Reyes, J. L., Vásquez, J., & Cano, P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20 (1), 68-83. <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707>
- Moreno-Bermúdez, L. J., Reyes, M., Gómez, R., Rodríguez, M., Kosky, R. G., Roque, B., & Chong, B. (2017). Respuesta de cultivares de *Musa* spp. al estrés hídrico in vitro inducido con polietilenglicol 6000. *Revista Colombiana Biotecnología Biotecnología Vegetal*, 19 (2), 75-85. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n2.60405>
- Saikia, J., Sarma, R. K., Dhandia, R., Yadav, A., Bharali, R., Gupta, V. K., & Saikia, R. (2018). Alleviation of drought stress in pulse crops with ACC deaminase producing rhizobacteria isolated from acidic soil of Northeast India. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21921-w>
- Sunita, K., Srivastava, M., Abbasi, P., & Muruganandam, M (2019). Impact of Salinity on Growth and N<sub>2</sub>-Fixation in *Melilotus indicus*. *The Journal of Plant Science Research*, 35(1), 109-119. [https://www.researchgate.net/publication/344459607\\_Impact\\_of\\_Salinity\\_on\\_Growth\\_and\\_N2-Fixation\\_in\\_Melilotus\\_indicus](https://www.researchgate.net/publication/344459607_Impact_of_Salinity_on_Growth_and_N2-Fixation_in_Melilotus_indicus)
- Swarnalakshmi, K., Yadav, V., Tyagi, D., Dhar, D. W., Kannepalli, A., & Kumar, S. (2022). Significance of plant growth promoting rhizobacteria in grain legumes: Growth promotion and crop production. *Plants (Basel)*, 9(11), 1596. <https://doi.org/10.3390/plants9111596>
- Tewari, S. & Sharma, S. (2020). Rhizobial exopolysaccharides as supplement for enhancing nodulation and growth attributes of *Cajanus cajan* under multi-stress conditions: A study from lab to field. *Soil and Tillage Research*, 198, 104545. <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104545>
- Vargas-Blandino, D., & Cárdenas-Travieso, R. M. (2021). Cultivo del garbanzo, una posible solución frente al cambio climático. *Revista Cultivos Tropicales*, 42(1) e09, <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v42n1/1819-4087-ctr-42-01-e09.pdf>
- Velandia, K., Reid, J.B., & Foo, E. (2022). Right time, right place: The dynamic role of hormones in rhizobial infection and nodulation of legumes. *Plant Communications*, 3(5), 100327. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2022.100327>
- Vincent, J. M. (1970). *Manual of Practical Study of Root-Nodule Bacteria*. Blackwell Scientific.
- Santillana, N. (2021). Mecanismos de inducción de rizobios para reducir el estrés por sequía en las leguminosas. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 23(4), 258-265. <https://dx.doi.org/10.18271/ria.2021.263>