



Efecto de *Rhizobium etli* en el crecimiento de plántulas de caña de azúcar, *Saccharum officinarum*, en condiciones de laboratorio

Effect of *Rhizobium etli* on seedling growth of sugar cane, *Saccharum officinarum*, under laboratory conditions

Nolia Ferrel-Caballero¹ y Bertha Soriano²

¹Tesista Escuela AP de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo, Perú.

²Departamento de Microbiología y Parasitología, UNT.

RESUMEN

Se determinó el efecto de *Rhizobium etli* a una concentración de 10^8 UFC/mL sobre el crecimiento de plántulas de *Saccharum officinarum* "caña de azúcar" mediante la medición de: altura de plántulas, longitud de raíz mayor, densidad radicular, peso seco de la parte aérea e índice de efectividad de la inoculación a los 30 y 60 días post- inoculación en condiciones de laboratorio y en tres repeticiones. Se cultivó en suelo agrícola 135 yemas previamente desinfectadas; después de 30 días de crecimiento se procedió a la inoculación, para ello, el cultivo de *R. etli* 188-03 se reactivó en Agar Extracto de Levadura Manitol Rojo de Congo a 28°C por 48 horas y se propagó en Agar Extracto de Levadura Manitol a 28°C por 48 horas. Después se prepararon 30 suspensiones a la concentración de 9×10^8 UFC/mL. Se inoculó 100 mL de suspensión bacteriana a cada plántula de *S. officinarum* entre la raíz y parte del suelo; además, se agregó agua destilada y fertilizante químico "Nutri Sil Premium". Se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre las cuatro variables agronómicas medidas. Se concluye que, en condiciones de laboratorio, *R. etli* 188-03 presenta un efecto positivo en el crecimiento de plántulas de *S. officinarum* a los 30 y 60 días post-inoculación.

Palabras claves: *Rhizobium etli*, *Saccharum officinarum*, variable agronómica

ABSTRACT

The effect of *Rhizobium etli* at a concentration of 10^8 CFU / mL on seedling growth of *Saccharum officinarum* "sugar cane" was determined by measuring: seedling height, root length increased, root density, dry weight of the part Aerial and effectiveness index inoculation at 30 and 60 days post-inoculation in laboratory conditions and in three replications. In agricultural land was cultivated 135 previously disinfected buds; after 30 days of growth inoculation was made, for it, growing *R. etli* 188-03 was reactivated in Agar Yeast Extract Mannitol Red Congo at 28 ° C for 48 hours and spread on Agar Yeast Extract Mannitol to 28 ° C for 48 hours. After 30 concentration suspensions 9×10^8 CFU / mL were prepared. 100 ml of bacterial suspension was inoculated to each seedling from *S. officinarum* between the root and part of the floor; additional distilled water and chemical fertilizer "Nutri Premium Sil" was added. Statistically significant difference ($p < 0.05$) was found between the four agronomic variables measured. We conclude that, under laboratory conditions, *R. etli* 188-03 has a positive effect on seedling growth of *S. officinarum* at 30 and 60 days post-inoculation.

Keywords: *Rhizobium etli*, *Saccharum officinarum* variable agronomic

INTRODUCCIÓN

La capacidad de varias cepas de *Rhizobium* para promover el desarrollo y crecimiento de diferentes plantas hospederas ha sido ampliamente estudiada en los últimos años con el fin de verificar si la fijación de nitrógeno es factible en plantas no leguminosas^{1,2,3}. En efecto, el beneficio que proporciona *Rhizobium* a leguminosas en términos de fijación biológica de nitrógeno es conocido y se ha verificado que estas bacterias simbióticas tienen el potencial para ser empleadas como promotores de crecimiento de plantas no leguminosas⁴.

El uso de cepas nativas de *Rhizobium* presenta la posibilidad de gestionar la fertilización biológica del cultivo mediante el uso de biofertilizantes, con la finalidad de suplementar el nitrógeno, así como, activar procesos bioquímicos adicionales asociados con otros microorganismos presentes en el suelo^{5,6,7}. De esta forma, se puede incrementar la disponibilidad de otros nutrientes y sustancias promotoras del crecimiento, lo que constituye una alternativa ecológica y económicamente viable⁸.

Se han realizado estudios de aislamiento de *Rhizobium* en plantas no leguminosas como en lechuga, en cuyas semillas se detectó la presencia de microorganismos endófitos fijadores de nitrógeno, lo cual no constituye un hecho aislado, ya que se ha encontrado microorganismos similares en especies tanto agronómicas como silvestres: 853 aislamientos endófitos de plantas de soya, sorgo, trigo y maíz, así como, 27 de especies silvestres^{9,10,11}.

Una de las plantas de más alto rendimiento en biomasa por área y unidad de tiempo es la caña de azúcar, *Saccharum officinarum*; ésta produce el azúcar y es materia prima de alrededor de un centenar de productos derivados de gran valor para el desarrollo humano^{12,13,14}. Además, posee gran adaptabilidad a condiciones adversas del medioambiente, resistente a plagas y fija dióxido de carbono en proporciones comparables a la de los bosques tropicales¹⁵. Las mayores producciones de caña de azúcar se obtienen cuando se aplica una dosis de nitrógeno de 30 días después de la siembra o corte; otros autores indican cuando se aplica dosis fraccionada a los 30 y 60 días post-siembra¹⁶. Sin embargo, al igual que otros cultivos, es atacado por hongos, principalmente miembros del género *Puccinia*^{17,18,19}. La producción nacional proviene de 12 ingenios azucareros que se encuentran distribuidos en Lima, Ancash, Arequipa, Lambayeque y La Libertad²⁰.

Se ha encontrado a microorganismos nitrofixadores en tallos y raíces aéreas de caña de azúcar, aunque se desconoce la magnitud del efecto que provocan²¹. *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Rhizobium* son los microorganismos que tienen la capacidad de producir y mantener la secreción de fitohormonas (auxinas, giberelinas, citoquininas) en la rizosfera, aspecto que abre la posibilidad que puedan ser obtenidas por métodos biotecnológicos y utilizadas como inoculantes para mejorar la producción^{22,23}.

Es conocida la capacidad de las leguminosas para utilizar el nitrógeno del aire a través de la eficiente relación simbiótica que se establece entre estas plantas y las bacterias fijadoras de nitrógeno²⁴. El proceso de colonización de estas bacterias, si bien ocurre de forma natural, en ocasiones no resulta del todo eficiente, lo cual se debe, entre otras causas, a que la carga microbiana en los suelos es muy baja, como producto de la erosión, por ello, en los últimos años se ha incrementado el uso de rizobios como biofertilizantes, ya que son beneficios para las plantas²⁵.

Considerando el gran aporte a la economía nacional que proporciona la caña de azúcar, resulta importante investigar aspectos que mejoren la producción. La presente investigación se diseñó para determinar el efecto de *Rhizobium etli* 188-03, a una concentración de 10⁸ UFC/mL, en el crecimiento de plántulas de *Saccharum officinarum* “caña de azúcar” en condiciones de laboratorio, a través de la medición de las variables agronómicas: altura de plántulas, longitud de raíz mayor, densidad radicular, peso seco de la parte aérea e índice de efectividad de la inoculación (IEI) expresado en porcentaje.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico:

- Cultivo de *Rhizobium etli* 188-03, procedente del Laboratorio de Microbiología Ambiental de la Universidad Nacional de Trujillo.
- 135 yemas de *Saccharum officinarum* “caña de azúcar”, procedente de San Idelfonso-Virú-La Libertad.
- 1L de fertilizante químico “HOMAI W.P” obtenido de un lote comercial intacto.

Determinación físico-químico del suelo agrícola

El suelo agrícola utilizado fue recolectado del fundo San Idelfonso-Virú-La Libertad, en el mes de noviembre del 2013; con peso de 54kg para las tres repeticiones. Se realizó una caracterización físico-químico en base a los siguientes análisis: pH, materia orgánica (%), nitrógeno (%), potasio (%), fósforo (%), salinidad, humedad (%) y resistividad específica (AnexoN°03).Luego se procedió al tamizaje.

Desinfección de yemas de *S. officinarum* “caña de azúcar”

Las 135 yemas (45 yemas/repeticion) fueron sometidas a un proceso de desinfección que consistió en sumergirlas en una solución de “HOMAI W.P” en el cual su preparación consistía en la proporción 30g/ 20L, durante cinco minutos.

Siembra de yemas de *S. officinarum* “caña de azúcar”

Se procedió a la siembra de las 135 yemas de *S. officinarum* “caña de azúcar” en suelo agrícola (1Kg de suelo /yema) a una profundidad de 20 centímetros aproximadamente, con la finalidad que el suelo cubra totalmente la yema. Luego cada 4 días se procedió a agregarle agua.

Reactivación, evaluación de la pureza y propagación del cultivo de *R.etli* 188-03

Las bacterias de un cultivo se sembraron por agotamiento en placas que contenían ELMARC e incubado a 28°C por 48 horas. A partir del cultivo reactivado se observaron las características macro y micro-morfológicas de las colonias mediante las observaciones típicas y coloración Gram²⁶. A partir del cultivo de *R.etli* 188-03 reactivado, se propagó en siembra por agotamiento en 30 chatas de ron previamente esterilizadas conteniendo medio ELMA y se incubó a 28°C, durante 48 horas.

Preparación de inóculo de *R.etli* 188-03

Se preparó 30 suspensiones en 100mL de agua destilada con el cultivo de *R.etli* 188-03 propagado y se comparó con el tubo número tres del Nefelómetro de Mac Farland (9×10^8 UFC/mL).Luego se realizó el recuento en placa por siembra en superficie, en ELMARC; con la finalidad de corroborar la concentración utilizada en la suspensión. Se contó con un total de 135 plántulas, de las cuales 45 fueron utilizadas por repeticion y de ellas 15 plántulas /tratamiento.

La inoculación se realizó de la siguiente manera:

Grupo 01:

De las 15 plántulas, 5 fueron para la medición inicial (después de 30 días de crecimiento, sin inoculación) y las otras 10 (5 plántulas para la medición a los 30 y 5 plántulas para los 60 días post-aplicación de agua destilada estéril). Se inoculó entre la raíz y parte del suelo, 100 mL de agua destilada estéril/plántula.

Grupo 02:

De las 15 plántulas, 5 fueron para la medición inicial (después de 30 días de crecimiento) y las otras 10 (5 plántulas para la medición a los 30 y 5 plántulas para los 60 post-aplicación de fertilizante).Se aplicó el fertilizante químico “Nutri Sil Premium” (que contiene 33% de nitrógeno) a cada plántula, para lo cual su preparación fue de 10mLde fertilizante/20L de agua destilada.

Grupo experimental:

De las 15 plántulas, 5 fueron para la medición inicial (después de 30 días de crecimiento) y las otras 10 (5 plántulas para la medición a los 30 y 5 plántulas para los 60 post-inoculación bacteriana).Se inoculó entre la raíz y parte del suelo, 100 mL de suspensión bacteriana a una concentración aproximada de 9×10^8 UFC/mL. Luego se realizó el recuento en placa por siembra en superficie, en ELMARC; con la finalidad de corroborar la concentración utilizada en la suspensión. Se realizó por triplicado.

Efecto de la inoculación de *R.etli* 188-03 sobre el crecimiento de *S. officinarum*

El efecto de de *R.etli* 188-03 en el crecimiento de plántulas de caña de azúcar se determinó mediante la evaluación de las variables agronómicas tale como: altura de plántulas, longitud de raíz mayor, densidad radicular, peso seco de la parte aérea e índice de efectividad de la inoculación (IEI) expresado en porcentaje^{27, 28}, mediante la siguiente fórmula.

$$IEI = \frac{(\text{Tratamiento con inoculación} - \text{control sin inoculación})}{\text{Control sin inoculación}} \times 100$$

Recolección de datos y análisis estadístico

Se procedió a la recolección de datos de la siguiente manera: a los 30 días de crecimiento (antes de inoculación de agua destilada estéril, aplicación de fertilizante e inoculación de *R. etli* 188-03), a los 30 y 60 días post-inoculación de agua destilada estéril, post-aplicación de fertilizante y post-inoculación de *R. etli* 188-03. Para ello se evaluó las variables agronómicas anteriormente descritas. Las plántulas fueron lavadas con agua corriente para eliminar los restos del suelo presentes en raíces; se midió la altura de las plántulas, longitud de raíz mayor y densidad radicular. Posteriormente la parte aérea fue separada de las raíces y luego colocada en papel bond; luego se secó en el horno a 60°C por 72 horas y se determinó el peso seco de la parte aérea de la plántula. Los valores obtenidos de la evaluación se organizaron en tablas y figuras.

Los datos encontrados se analizaron por el método estadístico ANOVA, con el propósito de determinar la diferencia significativa entre las variables agronómicas de las plántulas de *S. officinarum* con los controles respectivos.

RESULTADOS

La altura promedio de las plántulas de caña de azúcar a los 30 y 60 días post-aplicación de agua destilada (Grupo 01), fertilizante químico (Grupo 02) y post-inoculación de *R. etli* 188-03 (Grupo experimental), en condiciones de laboratorio, mostró un mayor incremento de la altura promedio de las plantas inoculadas con *R. etli* 188-03 en comparación con el agua destilada y fertilizante químico (Figs. 1 y 2). Los mismos resultados fueron observados para el efecto sobre la longitud promedio de la raíz mayor (Figs. 3 y 4), la densidad promedio radicular de plántulas (Figs. 5 y 6), el peso seco aéreo promedio (Figs. 7 y 8) y el IEI (Fig. 9).

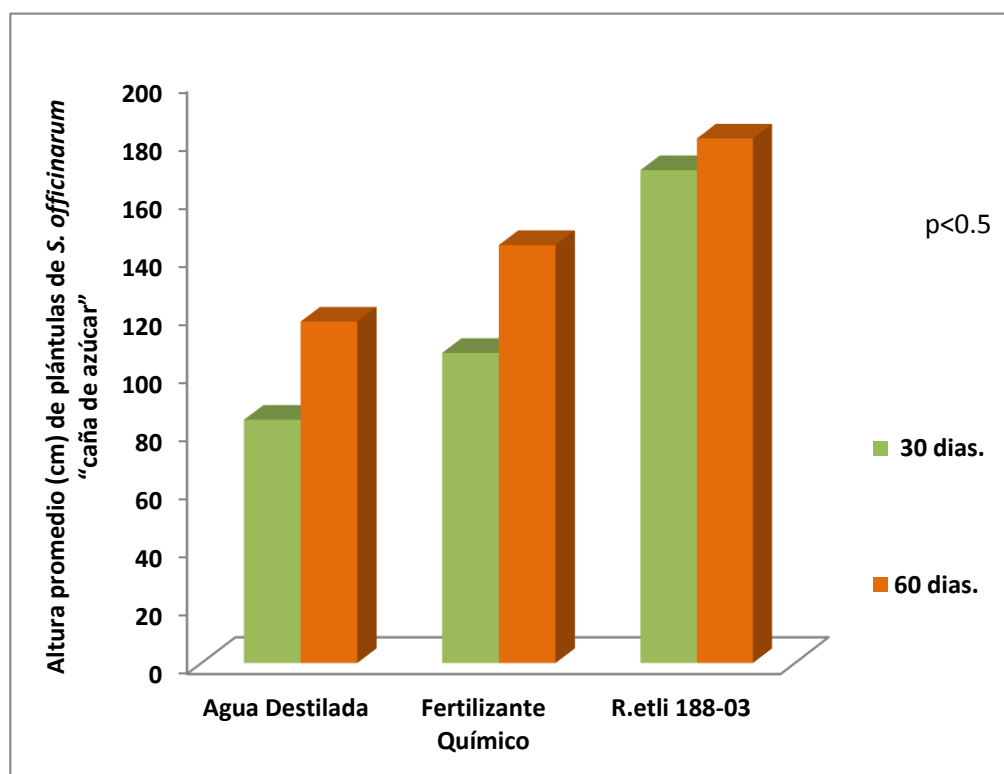


Fig. 1. Altura promedio (cm) de plántulas de *Saccharum officinarum* “caña de azúcar” a los 30 y 60 días post-aplicación de agua destilada, fertilizante químico post-inoculación de *Rhizobium etli* 188-03 en condiciones de laboratorio.



Fig.2. Altura de plántulas de *Saccharum officinarum* “caña de azúcar” inoculadas con: agua destilada (izquierda), fertilizante químico (centro) y *Rhizobium etli* 188-03 (derecha).

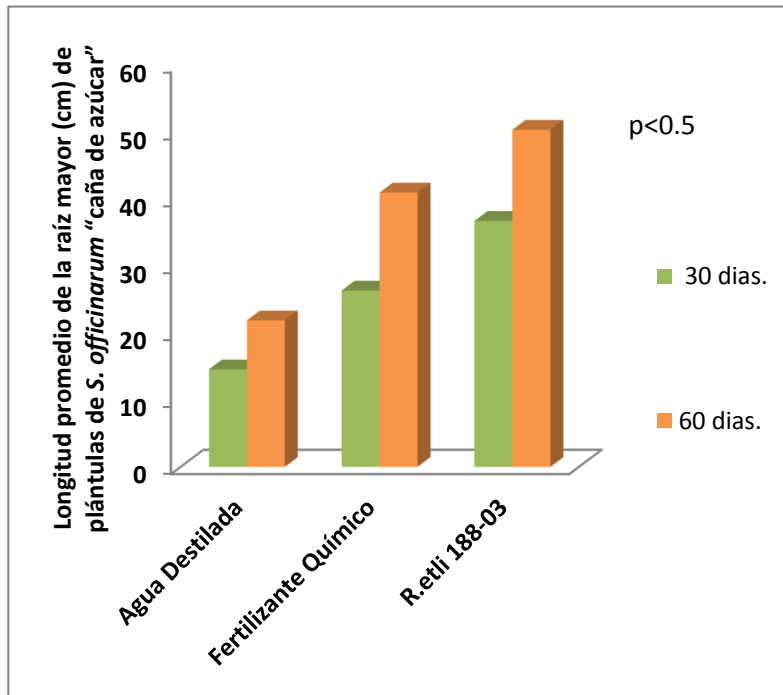


Fig. 3. Longitud promedio de la raíz mayor (cm) de plántulas de *Saccharum officinarum* “caña de azúcar” a los 30 y 60 días post-aplicación de agua destilada, fertilizante químico y post-inoculación de *Rhizobium etli* 188-03 en condiciones de laboratorio.

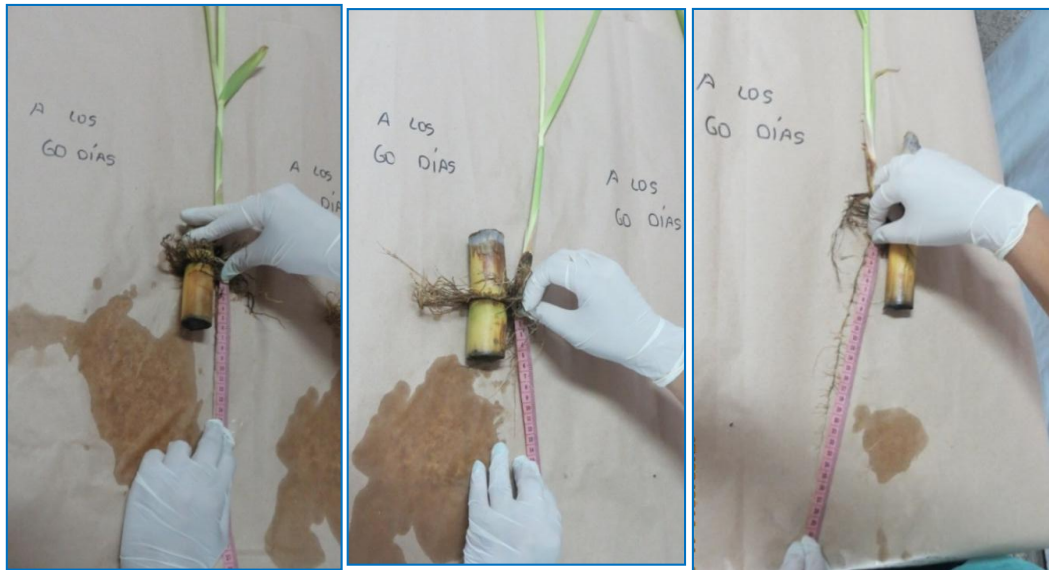


Fig. 4. Raíz mayor de plántulas de *Saccharum officinarum* “caña de azúcar” inoculadas con: agua destilada (izquierda), fertilizante químico (centro) y *Rhizobium etli* 188-03 (derecha).

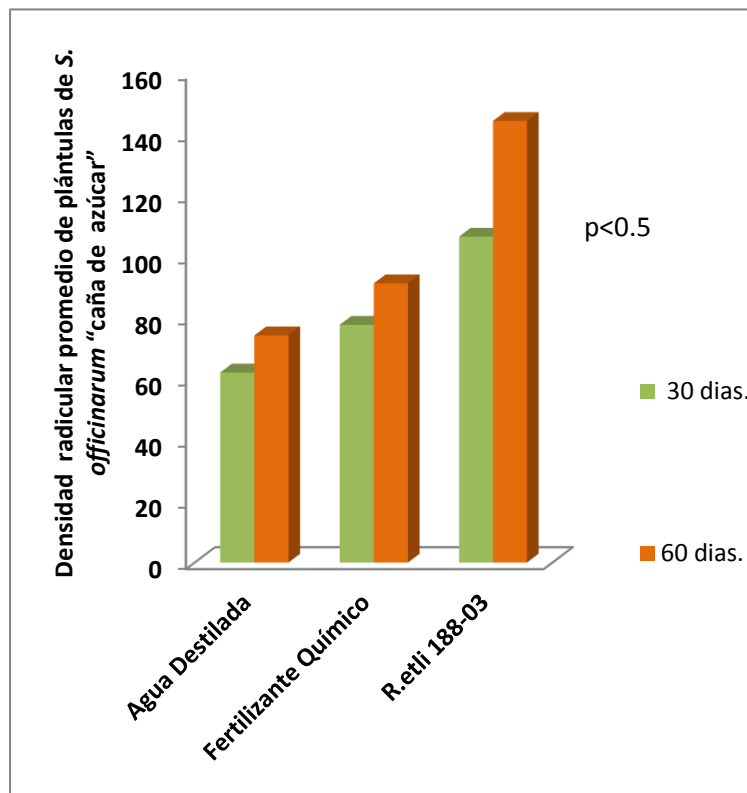


Fig. 5. Densidad radicular promedio de plántulas de *Saccharum officinarum* “caña de azúcar” a los 30 y 60 días post-aplicación de agua destilada, fertilizante químico y post-inoculación de *Rhizobium etli* 188-03 en condiciones de laboratorio.



Fig. 6. Densidad radicular de plántulas de *Saccharum officinarum* “caña de azúcar” inoculadas con: agua destilada (izquierda), fertilizante químico (centro) y *Rhizobium etli* 188-03 (derecha).

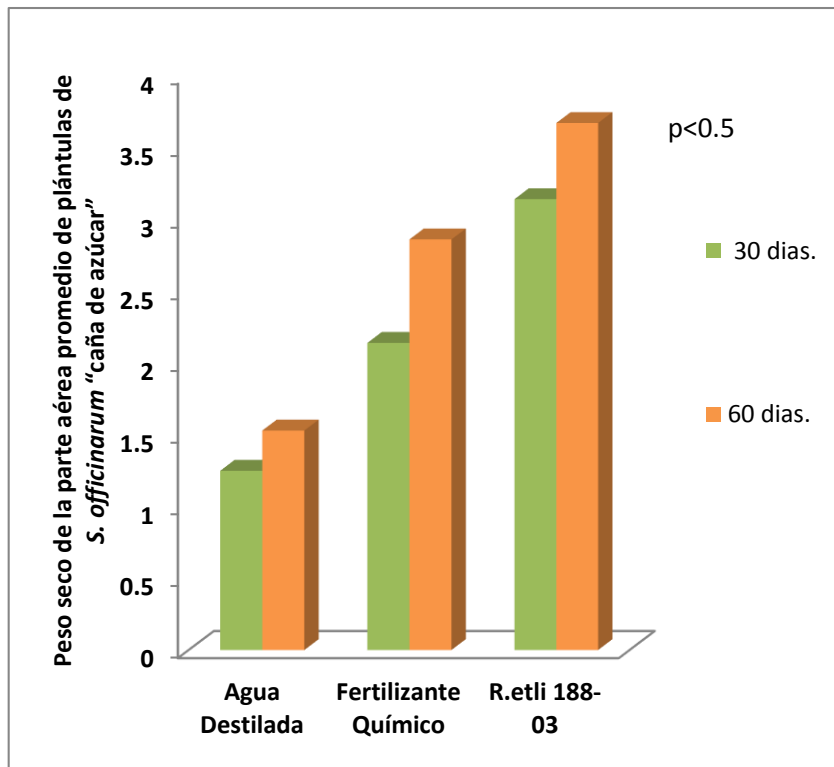


Fig. 7. Peso seco de la parte aérea promedio de plántulas de *Saccharum officinarum* “caña de azúcar” a los 30 y 60 días post-aplicación de agua destilada, fertilizante químico post-inoculación de *Rhizobium etli* 188-03 en condiciones de laboratorio.



Fig. 8. Peso seco de la parte aérea promedio de plántulas de *Saccharum officinarum* “caña de azúcar” a los 30 y 60 días post-aplicación de agua destilada (izquierda), fertilizante químico (centro) y *Rhizobium etli* 188-03 en condiciones de laboratorio. Después de 72 horas a 60°C.

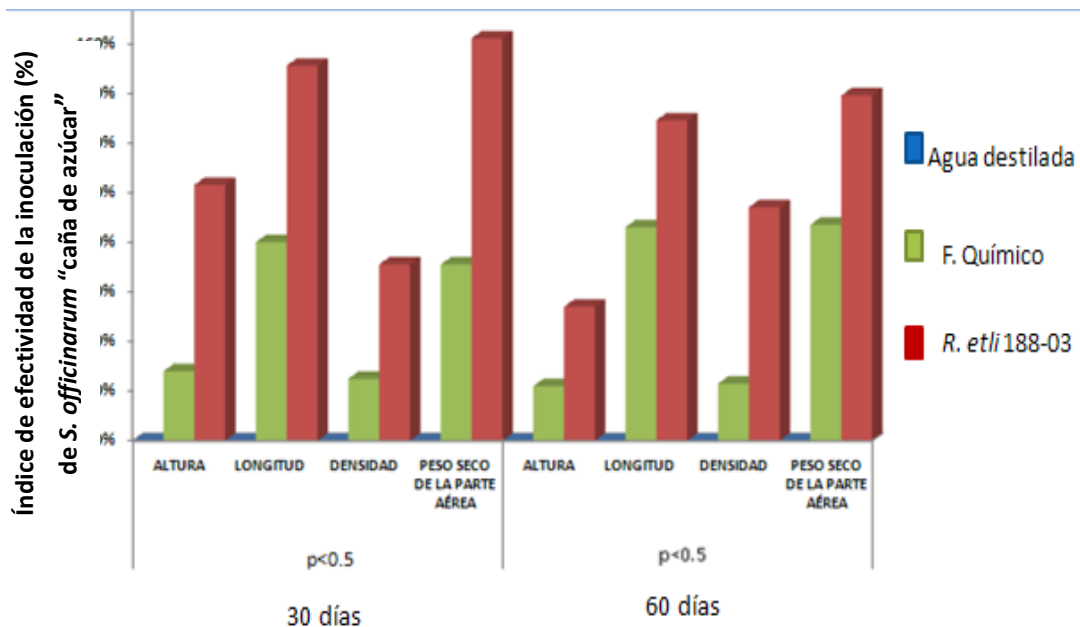


Fig 9. Índice de efectividad de la inoculación (IEI) expresado en porcentaje de plántulas de *Saccharum officinarum* “caña de azúcar” a los 30 y 60 días post-aplicación de agua destilada, fertilizante químico y post-inoculación de *R. etli* 188-03 en condiciones de laboratorio.

DISCUSIÓN

Es bien conocido que un considerable número de especies bacterianas asociadas con la rizósfera de las plantas son capaces de ejercer un efecto benéfico en su crecimiento. Este grupo de bacterias llamadas PGPR incluye a *R. etli* 188-03³². La actividad de esta rizobacteria en general se inicia con mecanismos de quimiotaxis que están relacionados con la presencia de flagelos, quimiorreceptores y sistemas de regulación codificados genéticamente. Logrando mantener la comunicación entre las células de la raíz con estas rizobacterias presentes en el suelo. Las rizobacterias capaces de interactuar con las raíces de plántulas no leguminosas como *S. officinarum* “caña de azúcar” son atraídas por sustancias excretadas por la raíz, que ocasionan el movimiento de la bacteria hacia la raíz de la plántula y así dar inicio a una relación benéfica³³.

Los efectos del uso de estos tratamientos biológicos en plántulas son directos o indirectos. En cuanto a la acción directa realizada por *Rhizobium* tenemos producción de fitohormonas, las cuales pertenecen a cinco grupos conocidos de compuestos que ocurren en forma natural, cada uno de los cuales exhibe propiedades fuertes de regulación en el crecimiento de las plántulas. En estos grupos se incluyen auxinas, etileno, giberelinas (GA), citocinas y ácido abscísico; todas son moléculas que se encuentran en un rango de peso molecular entre 28 Da (etileno) y 346 Da (GA)³⁴.

Es posible que esta rizobacteria haya producido la fitohormona llamada giberilina capaz de aumentar el crecimiento de las plántulas³⁷, como lo observado en los resultados (Fig. N°1 y 2), donde se aprecia la diferencia de altura del grupo experimental con los grupos 01 y 02. Además fue corroborado por análisis estadístico (Anexos 11, 12, 13 y 14), ya que en las plántulas tratadas existió diferencia significativa ($p < 0.05$) al compararlo con los grupos respectivos, siendo posible afirmar que *R. etli* 188-03 produjo esta fitohormona.

La auxina típica es el ácido indol acético (AIA), fitohormona cuyo mecanismo de expresión, metabolismo, transporte y distribución final se conocen poco. Esta fitohormona vegetal otorga beneficios a la planta puesto que su división a nivel celular incrementa, en la que se presenta un aumento de tamaño de los frutos y del número de hojas^{35, 36}. Además aumenta el número de raíces laterales, tamaño de raíces y peso seco de la parte aérea³⁷. Evidenciándose los resultados en las figuras 3, 4, 5, 6, 7 y 8; puesto que *R. etli* 188-03 promueve el crecimiento significativamente de las variables agronómicas como: densidad radicular, longitud de raíz mayor y peso seco de la parte aérea con respecto a los controles a los 30 y 60 post-inoculación de *R. etli* 188-03.

La producción de AIA ocurre a partir del triptófano por medio de la indol-acetamida que se encuentra implicada en la generación de tumores en planta; existe una ruta alternativa tomada por otras rizobacterias que involucra la utilización del ácido 3- indol pirúvico como intermediario. Su efecto en las células es controlar los tropismos que se manifiestan como inclinaciones, giros o curvaturas del tallo y desarrollo del sistema radical^{38, 34}, por lo que es posible que *R. etli* 188-03 haya producido esta fitohormona, ya que los tallos no presentaron curvaturas ni inclinaciones (Anexos N° 8 y 9).

Otra fitohormona producida por esta rizobacteria es posiblemente las citocinas, compuestos químicos capaces de regular la citoquinesis de las células vegetales. Las citocinas o citoquinas son derivadas de las amino purinas, siendo la zeatina las más estudiadas hasta el momento, sin embargo, las diferentes especies químicas encontradas poseen diferencias en sus radicales manteniendo una estructura general. Las citocinas pueden ser estructuralmente clasificadas en dos familias, las adenin citocinas y las difenil urea citocinas. Ambos tipos tienen una estructura molecular similar, así como, una actividad biológica parecida, lo que sugiere que las dos familias poseen un receptor común³⁹.

La biosíntesis de esta fitohormona en plantas ha sido difícil de identificar, sin embargo, se cree que el principal sitio de producción es el tejido radicular, moviéndose desde este a los tejidos vegetales que lo requieran, permitiendo así el crecimiento del vegetal⁴¹. Estimulando el mayor desarrollo de la raíz y proporcionando la capacidad de absorción de nutrientes se la raíz en beneficio de la planta⁴¹.

Según algunos autores, refieren la existencia de otro factor estimulante de crecimiento producido por ciertas bacterias rizosféricas como *Rhizobium*; que son las vitaminas hidrosolubles del grupo B, factor que actúa específicamente en la longitud del tallo, la producción de materia seca de la parte aérea y la capacidad de absorción de nutrientes en algunos cereales y gramíneas, en las cuales estos autores obtuvieron resultados favorables en la promoción de crecimiento al inocular esta

rizobacteria⁴². Lo que concuerda con el resultado obtenido en la figuras N° 7 y 8 donde el peso seco aérea presentó diferencia significativa respecto a los controles (Anexos 26, 27,28 y 29) por lo que posiblemente *R. etli* 188-03 ha producido dicho factor.

Otros investigadores también aseguraron que en plantas de sorgo inoculadas con varias cepas de *Rhizobium*, y este al producir ácido indol acético (AIA) provoca la iniciación radicular y elongación celular; la producción de citocinas favorece la división celular y la expansión de los tejidos, y las giberelinas influyen en la elongación de la plántula. Los resultados que obtuvieron estos investigadores demostraron la capacidad de las cepas de rizobios de influir en las variables agronómicas, ya que los tratamientos que seleccionaron igualaron a los valores del control fertilizado y presentaron un incremento de más del 100% del peso seco aéreo, comparado con el control⁴³.

Estas fitohormonas producidas por *R. etli* 188-03 posiblemente estimularon la densidad y longitud de raíz mayor de los pelos radiculares, aumentando así la cantidad de raíces en las plántulas, incrementando la capacidad de absorción de agua y nutrimentos (Fig.3,4,5 y 6); permitiendo que las plántulas sean vigorosas, productivas y tolerantes a condiciones climáticas adversas, lo que concuerda con lo obtenido por ciertos autores que sostienen que el rápido establecimiento de raíces, ya sea por elongación de la raíz primaria o por surgimiento de raíces laterales secundarias, permite a las semillas jóvenes de canola, planta no leguminosa que se usa para obtener aceite, tener pronto acceso a nutrientes y agua provenientes de su medio ambiente⁴⁴. Investigadores hacen mención sobre la habilidad de las cepas de rizobios para producir aminociclopropano-1-acido carboxílico (ACC)-diaminasa, compuesto que reduce el nivel de etileno en las raíces de las plantas, incrementándose de esta manera la longitud y el crecimiento de raíces³⁰.

El rendimiento de un cultivo, en este caso la caña de azúcar, viene dado por la capacidad de acumular biomasa (peso seco) en los órganos que se destinan a la cosecha, donde las plántulas inoculadas con las suspensiones rizobacterianas presentaron diferencia significativa en peso seco aéreo al respecto con los controles respectivos (Anexos 26, 27, 28 y 29). Así la distribución de materia seca entre los diferentes órganos de la plántula es mayor, por lo tanto una mayor producción del cultivo. Los fotosintatos producidos por la fotosíntesis en los órganos “fuente” (principalmente hojas), pueden ser almacenados o distribuidos vía floema entre los diferentes órganos “sumideros” de la plántula. Puesto que el rendimiento de un cultivo viene dado por la capacidad de acumular materia seca en los órganos de la plántula, un incremento proporcional de la biomasa destinada a estos órganos garantiza un incremento del rendimiento en las plántulas de caña de azúcar⁴⁵.

La acción realizada por *R. etli* 188-03, posiblemente aportó las fitohormonas de las cuales la giberilina podría ser la que produjo más, permitiendo así obtener plántulas con mayor altura, densidad radicular, longitud de raíz mayor y peso seco de la parte aérea al compararla con los controles respectivos. Promoviendo de esta manera el crecimiento de las plántulas de caña de azúcar, contribuyendo a fomentar una agricultura sustentable libre de fertilizante y atender la creciente demanda de alimentos de calidad y de bajo costo de producción, por ende la utilización de esta rizobacteria con capacidad para promover el crecimiento de las plántulas de caña de azúcar, son una gran alternativa de biofertilización.

Otra estimulación posiblemente es la producción de sideróforos microbianos que juegan un papel importante en el control biológico de algunas enfermedades de las plantas y la disponibilidad de hierro⁵, además de solubilizar fosfatos⁴. En relación al análisis del índice de efectividad de la inoculación (IEI) (Fig.9), de las variables agronómicas evaluadas, se aprecia mayor IEI en la inoculación de *R. etli* 188-03, en comparación con los controles respectivos, esto posiblemente se deba a la estimulación de las bacterias en las plántulas de caña de azúcar directamente a través de la producción de fitohormonas⁴⁶.

Este trabajo indica que la inoculación de *R. etli* 188-03 tiene un excelente potencial para ser utilizado como promotor de crecimiento de plantas no leguminosas, constituyendo un medio económicamente atractivo y ecológicamente aceptable para reducir el uso de agroquímicos en plantas. Los resultados obtenidos en la presente investigación corroboran otras investigaciones de investigadores en la promoción del crecimiento de plantas no leguminosas en el campo de la inoculación con cepas de rizobios^{47, 48}.

CONCLUSION

- *R. etli* 188-03 presenta un efecto positivo en el crecimiento de altura, longitud de raíz mayor, densidad radicular y peso seco de la parte aérea en plántulas de *S. officinarum* “caña de azúcar” a los 30 y 60 días post-inoculación, en condiciones de laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. García Delgado JM. Efecto de la coinoculación de *Bradyrhizobium yuanmingense* y *Rhizobium etli* para promover el crecimiento en *Lactuca sativa* L. “Lechuga” en condiciones de laboratorio. [Tesis de Biólogo-Microbiólogo]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2011.
2. Zavaleta Verde ED. Eficiencia en la nodulación de rizobios nativos autenticados y aislados de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. “Caupi” de los departamentos de Lambayeque y Ucayali-Perú. [Tesis de Biólogo-Microbiólogo]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2008.
3. Santillana N, Arellano C, Zúñiga D. Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). *Ecol.Apl.* 2005; 4(2):47-51.
4. Antoun H, Beauchamp CJ, Goussard N, Chabot R, Lalander R. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: Effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). *Plant.soil.*1998; 204:57-67.
5. Loper JE, Buyer JS. Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Mol Plant Microbe Int.*1991; 4:5-13.
6. Gutiérrez-Zamora M, Martínez-Romero E. Natural endophytic association between *Rhizobium etli* and maize (*Zeamais*). *J. Biotech.*2001; 91:117-126.
7. Noel TC, Sheng CK, Pharis RP y Hynes MF. *Rhizobium leguminosarum* as a plant growth promoting rhizobacterium: direct growth promotion of canola and lettuce. *Cand. J. Microb.*1996; 42:279-285.
8. Andreeva, IN, Redkina, TV y Ismailov SF. Involvement of indoleacetic acid in the stimulation of *Rhizobium* legume symbiosis by *Azospirillum brasilense*. *Russian J. Plant. Phys.*1993; 40:780-785.
9. Guerinot ML. Iron uptake and metabolism in the rhizobia/legume symbioses. *Plant Soil.*1991; 130: 199-209.
10. Peña H, Reyes I. Aislamiento y evaluación de bacterias fijadoras de nitrógeno y disolventes de fosfatos en la promoción del crecimiento de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Interciencia.* 1992; 32(8): 560-565.
11. Zinniel D, Lambrecht P, Harris B, Feng Z, Kuczmariski D, Higley P, Ishimaru C, Arunakumari A, Barletta R, Vidaver A. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Appl.Env.Microbiol.*2002; 68:2198-2208.
12. Rodríguez B y, López M. Evaluación de la fertilización biológica del frijol con cepas nativas de *Rhizobium* aisladas de un ultisol de la altiplanicie del estado guarico. *Agron. Trop.*2009; 59(4): 381-386.
13. Villa Ramírez MS. Efectos de microbicidas y antagonistas microbianos sobre microorganismos causales del deterioro pos-cosecha de caña y su impacto en las pérdidas de sacarosa. [Tesis Para Obtener Grado De Magister]. Colombia: Instituto Politécnico Nacional; 2008.
14. Hernández Díaz R. Micropropagación de dos clones de Caña de azúcar (*Saccharum sp.*). [Tesis Para Obtener Grado De Biólogo-Microbiólogo]. Nicaragua: Universidad Nacional Agraria; 1998.
15. Zúñiga Pinto AI. Establecimiento *in vitro* de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) variedad CP 73-1547. [Tesis de Biólogo-Microbiólogo]. Honduras: Universidad Nacional Zamorano; 2012.
16. Kanwar JS, Youngdahl LJ. Micronutrient needs of tropical food crops. *Fert.Res.*1985; 7:43-67.
17. Ordosgoitti A, Aponte A. La roya de la caña de azúcar en la región central de Venezuela. *Agron trop.*1990; 40(4-6):317-326.
18. Bastidas L, Rea R, De Sousa O, Briceño R y Hernández E. Potencial azucarero y panelero de cinco cultivares de caña de azúcar en el valle de santa cruz de bucaral, estado falcón, Venezuela. *Agron.Trop.* 2009; 59(2): 137-148.
19. Torriente D. Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar: Perspectivas de su uso en cuba. *Cult. Trop.*2010; 31:19-26.
20. Marín D. Indicadores básicos de producción cultivo caña de azúcar estado Lara, periodo 200-2005 [Tesis Para Obtener Grado De Magister]. Venezuela: Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado. 2007.
21. Román Gutiérrez LA. Nematodos fitoparásitos en suelo de cultivo y raíces de *Saccharum officinarum* cv. CH 32-8560, sembrada en Cartavio, entre Julio y Setiembre del 2003. [Tesis Para Obtener Grado De Biólogo-Microbiólogo]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. 2003.
22. Hernández Y, Olga A, Ramón M. Utilización de algunos microorganismos del suelo en cultivos de interés para la ganadería. *Rev Cub Cienc Agríc* 2001; 35(2):87-97.
23. Pedraza R, Teixeira K, Fernández Scavino A, García de Salamone I, et al. Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. *Rev Corp Cienc Tec Agrop.*2010; 11(2):155-164.

24. Punschke K, Mayans M. Selección de cepas de *Herbaspirillum* spp. promotoras del crecimiento de arroz. *Agrociencia Uruguay*.2011; 15:19-26.
25. Cavalcante V, Döbereiner J .A new acid-tolerant nitrogenfixing bacterium associated with sugarcane. *Plant. Soil* .1988; 108: 23-31.
26. Sosa A, Elías A, García OA, Sarmiento M. Aislamiento y caracterización fenotípica parcial de cepas de rizobios que nodulan leguminosas rastreras. *Rev. Cubana. Cienc. agríc.*2004; 38 (2):197-205.
27. Davies FT., Calderon CM, Huamán Z. Influence of Arbuscular Mycorrhizae Indigenous to Peru and a Flavonoid on Growth, Yield and Leaf Elemental Concentration of “Yungay” Potatoes. *Hort.Science*.2005; 40(2):381-385.
28. Rincon J, Clavero T, Razz R, Pietrosemoli S, Mendez F, Noguera N. Efecto de la inoculación de cepas nativas e introducidas de Rhizobium sobre la producción de materia seca en leucaena (*Leucaena leucocephala*).*Rev.Fac.Agron*.2000; 17(1):434-444.
29. Klopper JW, Beauchamp CJ. Areview of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can. J. Microbiol* 1992; 38:1219-1232.
30. Schlöter M, Wiehe W, Assmus B, Steindl H, BeckeH, Hoflich G and Hartmann A. Root colonization of different plants by plant-growth- promoting *Rhizobium leguminosarum* bv.Trifolii R39 studied with monospecific polyclonal antisera. *Appl.Environ.Microbiol.* 1997; 63:2038-2046.
31. Sabry RS, Sahel SA, Batchelor CA, Jones J, Jtam J, et. Al. Proceedings of the Royal Society of London Series B. *Biol.Sci*.2007; 264:341-346.
32. Alva Nuñez F. Selección *in vitro* de cultivos rizobianos con capacidad promotoras del crecimiento vegetal. [Tesis de Biólogo-Microbiólogo] .Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2011.
33. Camelo M, Vera S, Bonilla R. Mecanismo de Acción de las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal. *CAPROICA*. 2011; 12(2):159-166.
34. Kamara A. Nutrición, Regulación del crecimiento y Desarrollo vegetal. *Integ.Tec. Rec.Agro. Kam*.2001; 69:373-386.
35. Uggla C, Moritz T, Sandberg B. Auxin as a Positional Signal in Patten Formation in Plant. *Preceeding of theNational Academy of Science*. 1996; 93:9282-9286.
36. Martín Pérez A. Efectos de la Inoculación del hongo de Micorrización *Tuber melanosporum* y la Rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* en la calidad de plántulas de *Pinus halepensis*. [Tesis Para Obtener Grado De Biólogo].Madrid: Universidad Politecnica de Madrid; 2011.
37. Ahmad I, Pichtel J, Hayat S. *Plant-Bacteria Interactions*. WILEY-VCH Verlag GmbH and Co.KGaA.2008; 91:9182-9190.
38. Baca B, Elmerich C. *Microbial Production of Plant Hormones*. Kluwer Academic Publishers. 2007; 90:113-143.
39. Garcia de Salmone I, Hynes R, Nelson L. Role of Cytokinins in Plant Growth Promotion by Rhizosphere Bacteria.*Appl.Environ.Microbiol*.2005:173-195.
40. Becquer C, Salas B, Avila L, Palmero J, Napoles A, Ulloa L, et al. Selección de cepas Aisladas de Rizobios, Inoculadas en Maiz (*Zea mays*) en condiciones de campo en ecosistemas ganaderos de SantlSpirtus, Cuba. *Rev.Cub. Cienc. Agric*.2011; 45(4):445-449.
41. Izaguirre M, Labandera C, Sanjuan J. Biofertilizante en Ibero America: visión Técnica, científica y empresarial. *Rev.Cub. Cienc.Agric*. 2007; 22:107-149.
42. Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y. Plant Growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical. Rev.Plant.Sci*.2003; 22(2):107-149.
43. Bécquer J, Salas B, Avila V, Palmero A, Napoles A, Ramos Y, et al. Efecto de la inoculación con Rizobios precedentes de Alberka, Canada, en sorgo en Condiciones de Campo. *Pastos y Forrajes*. 2011. 34 (3):3012-3013.
44. Patten C, Glick B. Role of *Pseudomonas putida* Indole acetic Acid in Development of the Host Plant Root System. *Environ Microbiol*.2002; 8(37): 3795-3801.
45. Marcelis L. The Dynamic of Growth and Dry Matter Distribution in Cucumber. *Annusl of Botany*.1992; 69: 487-492.
46. Lippmann B, Leinhos V, Bergmann H. Influence of auxin producing rhizobacteria on root morfology and nutrient accumulation of crops.I. Changes in root morphology and nutrient accumulation in maize(*Zea mays* L.) caused by inoculation with indole -3-acetic acid(IAA) producing *Pseudomonas* and *Acinetobacter* strains or IAA applied exogenously. *Ang. Bot*. 1995; 69:31-36.
47. Chabot R, Antoun H, Cescas MP. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminous arumbio* var phaseoli. *Plant. Soil* 1996a; 184:311-321.
48. Yanni YG, Rizk RY, Corich V, Squartini A, DazzoFB. Endorhizosphere colonization and growth promotion of Indica rice varieties by *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. In Proc.15th North American Symbiotic Nitrogen-Fixation Cinferece. *Rev.Plant.Sci*. 1195; 70:31-36.