



Efecto de la inoculación mixta de *Rhizobium etli* y *Bradyrhizobium yuanmingense* sobre el crecimiento aéreo y radicular de *Oryza sativa* var. NIR

The effect of the mixed inoculation of *Rhizobium etli* Rf 188-03 and *Bradyrhizobium yuanmingense* Rc 391-01 on the aerial and root growth of *Oryza sativa* var. NIR

Héctor Daniel Bacilio Pérez y Bertha Soriano Bernilla

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 la inoculación mixta de *Rhizobium etli* Rf 188-03 y *Bradyrhizobium yuanmingense* Rc 391-01 sobre el crecimiento aéreo y radicular de *Oryza sativa* var. NIR. Para ello, se realizaron seis tratamientos (T) y tres repeticiones, considerándose: T1 (inoculado con agua destilada estéril), T2 (con fertilizante químico), T3 (inoculado con suspensión bacteriana de *R. etli* Rf 188-03), T4 (inoculado con suspensión bacteriana de *B. yuanmingense* Rc 391-01), T5 (inoculado con suspensión bacteriana *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01), T6 (inoculado con suspensión bacteriana de *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01; además, de fertilizante químico). Se trabajó con ocho plántulas sembradas de manera equidistante en una maceta que contenía 5 kg de suelo agrícola. Se inoculó las suspensiones bacterianas en los días 16 y 36 de realizado el trasplante, añadiendo 60 y 20 mL de las suspensiones bacterianas a cada una de las macetas según los tratamientos descritos anteriormente. Las evaluaciones se hicieron a los 36 y 56 días de realizado el trasplante tomando para ello cuatro plantas al azar de cada maceta y teniendo como base: altura de la planta, número de macollos, peso fresco y seco tanto de la parte aérea y radicular. Se determinó que la inoculación mixta de *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 incrementa de manera significativa ($p < 0,05$) la altura de la planta, el número de macollos y el peso fresco y seco tanto de la parte aérea como radicular de plantas de *Oryza sativa* var. NIR en condiciones de laboratorio.

Palabras clave: *Rhizobium etli*, *Bradyrhizobium yuanmingense*, *Oryza sativa*, crecimiento aéreo y radicular

ABSTRACT

The effect of the mixed inoculation of *Rhizobium etli* Rf 188-03 and *Bradyrhizobium yuanmingense* Rc 391-01 on the aerial and root growth of *Oryza sativa* var. NIR was determined. For this, six treatments (T) and three replicates were performed, considering: T1 (inoculated with sterile distilled water), T2 (with chemical fertilizer), T3 (inoculated with bacterial suspension Rf R.etli 188-03), T4 (inoculated with bacterial suspension *B. yuanmingense* Rc 391-01), T5 (inoculated with bacterial suspension *R. etli* and *B. yuanmingense*), T6 (inoculated with bacterial suspension *R. etli*, *B. yuanmingense* also chemical fertilizer). It was worked with eight equidistant planted seedlings in a pot containing 5 kg of agricultural land. The bacterial suspensions on days 16 and 36 after transplantation was inoculated by adding 60 to 20 mL of bacterial each of the pots as described above treatments suspensions. Evaluations were made at 36 and 56 days after transplantation for it taking four floors at random from each pot and on the basis of: plant height, number of tillers, both fresh and dry weight of aerial and root part. It was determined that the mixed inoculation of *R. etli* Rf 188-03 and *B. yuanmingense* Rc 391-01 increased significantly ($p < 0.05$) plant height, number of tillers and both fresh and dry weight air as part of root plants *Oryza sativa* var. NIR, under laboratory conditions.

Keywords: *Rhizobium etli*, *Bradyrhizobium yuanmingense*, *Oryza sativa*, aireal and root growth.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años la agricultura se ha caracterizado por el uso intensivo de fertilizantes químicos para mantener altas producciones, sin tener en cuenta que se ocasiona destrucción de los agroecosistemas, evidenciándose principalmente por la pérdida de productividad de los suelos, alteración de la calidad de los productos agrícolas, contaminación del ambiente y problemas de salud en la población^{1,2}.

En el Perú, el arroz es un cereal de gran importancia en la alimentación diaria del poblador peruano, es el cultivo con mayor área instalada en los valles del norte y de la ceja de selva donde se cultivan las variedades, Inti, Sican, Costa Norte, Taymi, San Antonio y NIR-I, y constituye el 10% del valor bruto de la producción agropecuaria³.

El crecimiento de un cultivo de arroz depende de factores tales como, el clima, el agua y los nutrientes accesibles a la planta⁴. El nitrógeno es el nutriente más importante, ya que casi todos los suelos son deficientes en este elemento⁵. Un suministro adecuado de nitrógeno incrementa el área foliar y la fotosíntesis por unidad de área, lo que da como resultado un mayor rendimiento en la cosecha, por el contrario, cuando el suelo es deficiente de este elemento el cultivo se desarrolla mal y las plantas de arroz pierden su color verde normal, hasta tornarse amarillentas^{6,7}.

La forma más conocida y empleada para suplir las necesidades de nitrógeno de los cultivos de arroz es la fertilización química, con el fin de promover el desarrollo rápido del cultivo, aumentando la altura y agrandando el tamaño de las hojas^{7,8}. Si bien ésta forma de fertilización representa una manera rápida de reponer el nitrógeno perdido, en el cultivo de arroz la eficiencia de los fertilizantes químicos aplicados es muy baja, lo cual ocasiona que se aplique más fertilizante del realmente necesario, causando un desmedro económico^{1,8}.

La fijación biológica de nitrógeno en los cultivos de arroz, sin embargo, puede ser potenciada mediante el uso de biofertilizantes, con el objetivo de incrementar el número de microorganismos en el medio y acelerar los procesos microbianos, aumentando de esta forma las cantidades de nutrientes que pueden ser asimilados por las plantas⁸. Estos son preparados de microorganismos aplicados al suelo y/o planta con el fin de sustituir parcial o totalmente la fertilización sintética así como disminuir la contaminación generada por los agroquímicos; los microorganismos utilizados en los biofertilizantes son clasificados dentro de dos grupos: uno que incluye a aquellos que tienen la capacidad de sintetizar sustancias que promueven el crecimiento de la planta, fijando nitrógeno atmosférico, solubilizando hierro y fósforo inorgánico y mejorando la tolerancia al stress por sequía, salinidad, metales tóxicos y exceso de pesticidas, por parte de la planta, y otro, aquellos que son capaces de disminuir o prevenir los efectos de deterioro de microorganismos patógenos^{9,10}. Dentro del primer grupo están las llamadas rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPR) e incluye al género *Rhizobium*, que se caracteriza por su habilidad de facilitar directa o indirectamente el desarrollo de la raíz y del follaje de las plantas.

La capacidad PGPR de *Rhizobium* ha sido estudiada porque la agricultura sustentable demanda mejorar la eficiencia de la fijación de nitrógeno a través del uso de bacterias competitivas capaces de extender la ventaja de la simbiosis a otros cultivos no leguminosos^{11, 12}. Distintas especies de rizobios se han encontrado como endófitos de diversas plantas no leguminosas como el algodón y el maíz dulce, arroz asiático *Oryza sativa*, maíz, arroz africano *Oryza breviligulata*, cebada, trigo y canola. Rizobios y otros microbios pueden penetrar las raíces de las especies no leguminosas a través de las grietas o por los puntos de la aparición lateral de la raíz y establecerse en el xilema y en los espacios intercelulares de las plantas¹².

Varios autores han reportado la capacidad promotora del crecimiento de cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* en plantas no leguminosas¹³. En investigaciones de doble inoculación con *Azospirillum* y *Rhizobium* en leguminosas y no leguminosas se observó un incremento en el crecimiento, cuando se las comparó con la inoculación de cada una de ellas por separado¹⁴. Las asociaciones entre rizobios y plantas no leguminosas pueden mejorar el crecimiento de las plantas, aunque no se ha demostrado que sea mediante la fijación de nitrógeno, sino más bien debido a la producción de sideróforos, fitohormonas o solubilización de fosfatos^{12,15}.

El hecho de que la fijación biológica de nitrógeno esté basada en fuentes de energía renovable y libres de contaminación, y que pueda suplir en parte las necesidades de nitrógeno de cultivos como el

arroz, hace del uso de los biofertilizantes una buena alternativa para la agricultura en el Perú, pues con ellos se podrían reducir los costos de producción y disminuir el daño a la naturaleza; además, debido a que no se han efectuado este tipo de investigaciones en el Perú, se propuso una investigación orientada a evaluar el efecto de la inoculación mixta de *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 sobre el crecimiento aéreo y radicular de *Oryza sativa* var. NIR, mediante la determinación de seis variables agronómicas: altura de la planta, número de macollos, peso fresco y seco de la parte aérea y radicular.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material de estudio

- Semillas certificadas de *Oryza sativa* var. NIR proporcionadas por la Casa Agrícola Fertiagro S.A.C.
- *Rhizobium etli* Rf 188-03 y *Bradyrhizobium yuanmingense* Rc 391-01 proporcionados por el Laboratorio de Microbiología Ambiental de la Universidad Nacional de Trujillo, los cuales fueron caracterizados molecularmente en el Laboratorio Mariano Tabusso de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Obtención y tratamiento del suelo agrícola.

Se utilizó 90 kg de suelo agrícola procedente de una parcela ubicada en el centro poblado Faclo Grande del Distrito de Guadalupe de la Provincia de Pacasmayo, en la que se cultivó arroz en años anteriores. Posteriormente el suelo fue tamizado y se le realizó un análisis físico-químico.

Germinación de las semillas.

Se trabajó con semillas certificadas de *Oryza sativa* var. NIR procedentes de la Casa Agrícola Fertiagro S.A.C. Inicialmente las semillas fueron cubiertas con tela de yute y sumergidas en una tina con agua por un periodo de 48 horas. Luego de éste periodo de remojo, las semillas fueron cubiertas con otra tela de yute durante otras 48 horas. Finalmente al quinto día se procedió a fijar dos semillas en cada hoyo de las almacigueras por un periodo de 25 días de iniciado el proceso de germinación.

Trasplante de plántulas.

Las plántulas obtenidas después del período de 25 días de iniciado el proceso de germinación, fueron trasplantadas en una cantidad de ocho plántulas por maceta, la cual contenía 5 kg de suelo agrícola. A continuación las plántulas fueron sometidas a riego continuo durante 6 días, para posteriormente realizar un período de secado de tres días y finalmente otro periodo de 6 días a riego moderado.

Preparación de inóculos de rizobios.

- **Reactivación y propagación del cultivo *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01.**
Para la reactivación de *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 a partir de cultivos puros, se procedió a sembrar en placas conteniendo Agar Extracto de Levadura Manitol Rojo de Congo (ELMARC) las cuales fueron incubadas a 28 °C por 4 días para el caso de *R. etli* y de 9 días de incubación para *B. yuanmingense*. Después se realizó la propagación de ambas bacterias en frascos Roux estériles conteniendo Agar extracto de levadura manitol (ELMA) incubados a 28 °C por 4 y 10 días respectivamente.
- **Preparación de la suspensión bacteriana de *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 y su posterior inoculación.**

El inoculante se preparó suspendiendo el crecimiento por separado, de los frascos Roux de cada una de las cepas en un volumen de 80 ml de agua destilada estéril hasta obtener una concentración final de aproximadamente 9×10^8 cél/mL comparado con el sistema de Mac Farland. Al mismo tiempo se procedió a sembrar por incorporación en Agar ELMARC para el recuento de UFC/mL. Las suspensiones bacterianas fueron inoculadas en los días 16 y 36 de realizado el trasplante, añadiendo 60 y 20 ml respectivamente, a cada una de las macetas según los tratamientos de estudio.

Tratamiento 1: inoculado con agua destilada estéril.

Tratamiento 2: con fertilizante químico (úrea y fosfato diamónico).

Tratamiento 3: inoculado con suspensión bacteriana de *R. etli* Rf 188-03.

Tratamiento 4: inoculado con suspensión bacteriana de *B. yuanmingense* Rc 391-01.

Tratamiento 5: inoculado con suspensión bacteriana de *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01.

Tratamiento 6: inoculado con suspensión bacteriana de *R. etli* Rf 188-03, *B. yuanmingense* Rc 391-01 y fertilizante químico.

Después de realizado cada tratamiento, se llevó a cabo un período de secado de 2 días y luego un riego moderado durante 6 días.

Fertilización.

La dosis que se utilizó para la fertilización fue de 0,402 g de úrea y fosfato diamónico por maceta, y se aplicó en forma de disolución acuosa. La fertilización se fraccionó en dos partes, en el día 16 y 36 después del trasplante, donde se le administró al Tratamiento 2 y al Tratamiento 6.

Evaluación del efecto de la inoculación mixta de *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 sobre el crecimiento aéreo y radicular de *Oryza sativa* var. NIR.

Se realizó evaluando seis variables agronómicas: altura de la planta, número de macollos, peso fresco y seco de la parte aérea y radicular en los días 36 y 56 de realizado el trasplante.

- **Medición de la altura de la planta**

Se midió en centímetros, considerando la medición desde la raíz hasta la yema terminal más sobresaliente.

- **Determinación del número de macollo**

Se cuantificó el número de macollos.

- **Determinación del peso Fresco de parte aérea y radicular**

Se cortó a nivel del suelo el sistema aéreo de las plantas y se determinó su peso fresco.

Posteriormente se extrajo cuidadosamente las raíces y se lavaron con abundantemente agua de caño para eliminar los restos de suelo y se determinó el peso fresco empleando una balanza analítica.

- **Determinación del peso seco de parte aérea y radicular**

Para determinar el peso seco de las muestras éstas fueron introducidas en bolsas de papel y secadas a 80 °C por 48 horas en el caso del follaje, y a 100 °C por 24 horas en el caso de las raíces.

Transcurrido el tiempo de secado las muestras se pesaron en una balanza analítica.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las seis variables agronómicas como altura de la planta, número de macollos, peso fresco y seco tanto de la parte aérea y radicular fueron procesados mediante análisis de varianza. En los casos donde se encontró diferencia significativa se realizó la prueba de Tukey para determinar cuáles de los tratamientos fueron diferentes con respecto al control.

RESULTADOS

En la figura 1 se muestra un incremento de la altura de las plantas de *Oryza sativa* var. NIR que fueron inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en comparación al tratamiento con agua destilada, a los tratamientos que fueron inoculados con una sola bacteria y al tratamiento con fertilizante. Además se observa una menor altura de las plantas inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 en comparación al tratamiento con fertilizante tanto a los 36 como a los 56 días de evaluación en condiciones de laboratorio.

En la figura 2 se observa un incremento en el número de macollos de las plantas de *Oryza sativa* var. NIR inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en comparación al tratamiento con agua destilada, a los tratamientos que fueron inoculados con una sola bacteria y con respecto al tratamiento con fertilizante tanto a los 36 como a los 56 días de evaluación en condiciones de laboratorio.

En la figura 3 el peso fresco (g) promedio de la parte aérea de las plantas de *Oryza sativa* var. NIR, fue mayor en las plantas que fueron inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en comparación al tratamiento con agua destilada, a los tratamientos inoculados con una sola bacteria y con respecto al tratamiento con fertilizante. Además se muestra un menor peso fresco en las plantas inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 a comparación de las plantas tratadas con fertilizante tanto a los 36 y 56 días de evaluación en condiciones de laboratorio.

En la figura 4 el peso fresco (g) promedio de la parte radicular de las plantas de *Oryza sativa* var. NIR en los ensayos evaluados a los 36 y 56 días de realizado el trasplante, fue mayor en las plantas que fueron inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en comparación al tratamiento con agua destilada, a los tratamientos inoculados con una sola bacteria y con respecto al

tratamiento con fertilizante. Además se muestra un menor peso fresco radicular en las plantas inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 a comparación de las plantas tratadas con fertilizante tanto a los 36 y 56 días de evaluación en condiciones de laboratorio.

En la figura 5 el peso seco (g) promedio de la parte aérea de las plantas de *Oryza sativa* var. NIR en los ensayos evaluados a los 36 y 56 días de realizado el trasplante, fue mayor en las plantas que fueron inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en comparación al tratamiento con agua destilada, a los tratamientos inoculados con una sola bacteria y con respecto al tratamiento con fertilizante.

En la figura 6 el peso seco (g) promedio de la parte radicular de las plantas de *Oryza sativa* var. NIR, en los ensayos evaluados a los 36 y 56 días de realizado el trasplante, fue mayor en las plantas que fueron inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en comparación al tratamiento con agua destilada, a los tratamientos inoculados con una sola bacteria y con respecto al tratamiento con fertilizante.

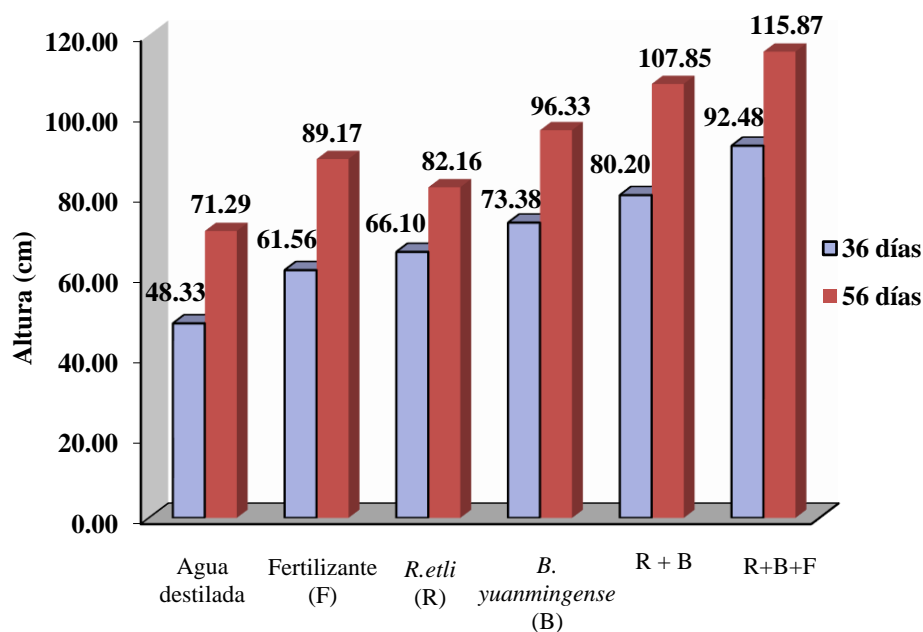


Fig. 1. Altura promedio de plantas de *Oryza sativa* var. NIR a los 36 y 56 días de realizado el trasplante y después de ser inoculadas con *Rhizobium etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en relación a los demás tratamientos en condiciones de laboratorio (* $p < 0.05$ a los 36 días, * $p < 0.05$ a los 56 días)

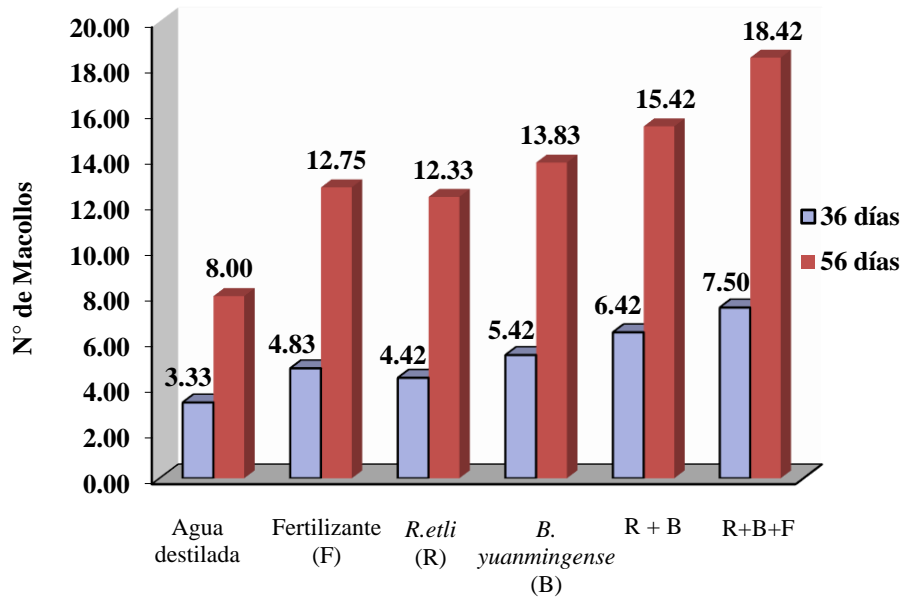


Fig. 2. Promedio del número de macollos de plantas de *Oryza sativa* var. NIR a los 36 y 56 días de realizado el trasplante y después de ser inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en relación a los demás tratamientos en condiciones de laboratorio (* $p < 0.05$ a los 36 días, * $p < 0.05$ a los 56 días).

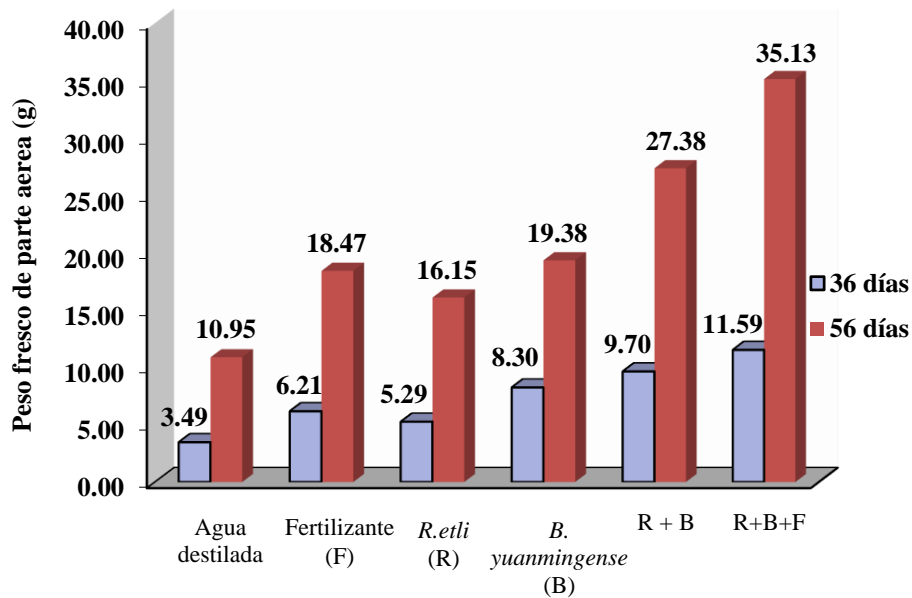


Fig. 3. Peso fresco (g) promedio de la parte aérea de plantas de *Oryza sativa* var. NIR a los 36 y 56 días de realizado el trasplante y después de ser inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en relación a los demás tratamientos en condiciones de laboratorio (* $p < 0.05$ a los 36 días, * $p < 0.05$ a los 56 días).

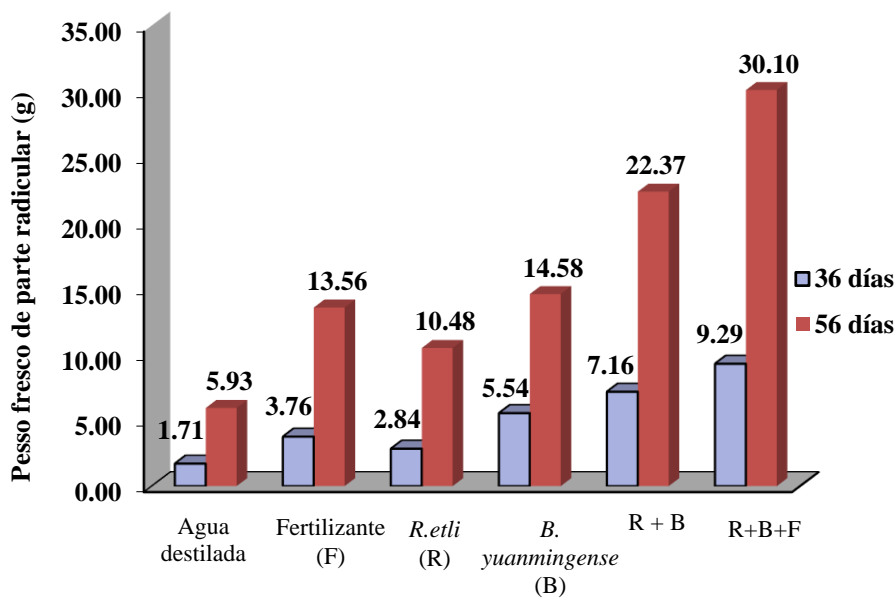


Fig. 4. Peso fresco (g) promedio de la parte radicular de plantas de *Oryza sativa* var. NIR a los 36 y 56 días de realizado el trasplante y después de ser inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en relación a los demás tratamientos en condiciones de laboratorio (* $p < 0.05$ a los 36 días, * $p < 0.05$ a los 56 días).

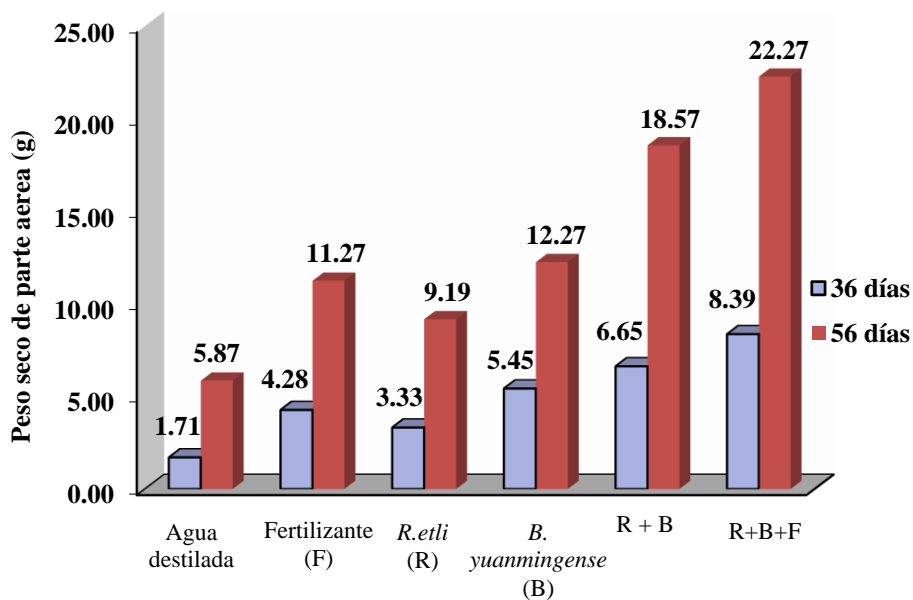


Fig. 5. Peso seco (g) promedio de la parte aérea de plantas de *Oryza sativa* var. NIR a los 36 y 56 días de realizado el trasplante y después de ser inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en relación a los demás tratamientos en condiciones de laboratorio (* $p < 0.05$ a los 36 días, * $p < 0.05$ a los 56 días).

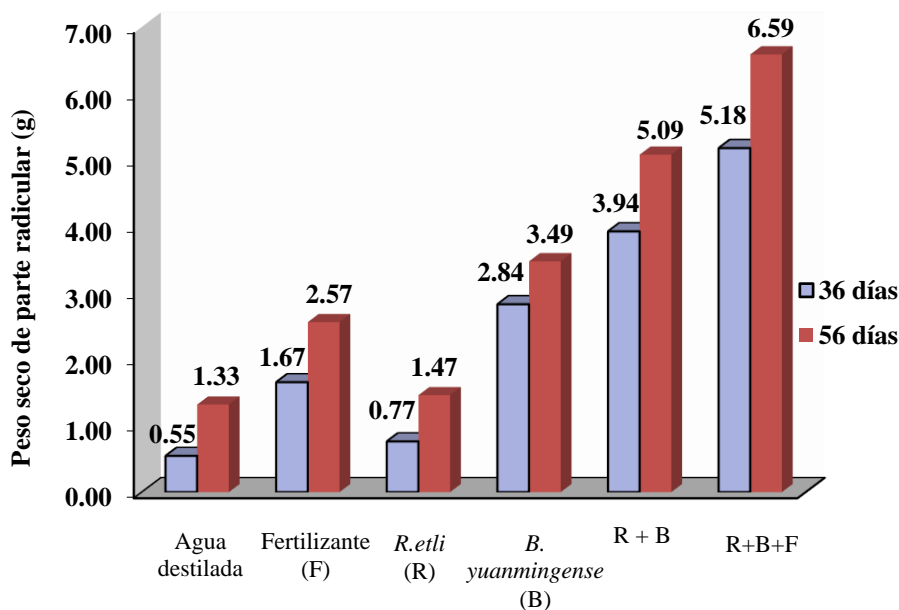


Fig. 6. Peso seco (g) promedio de la parte radicular de plantas de *Oryza sativa* var. NIR a los 36 y 56 días de realizado el trasplante y después de ser inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en relación a los demás tratamientos en condiciones de laboratorio (* $p < 0.05$ a los 36 días, * $p < 0.05$ a los 56 días).

DISCUSIÓN

Las plantas de *Oryza sativa* “arroz” var. NIR inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 incrementaron significativamente su altura en comparación a las plantas inoculadas con agua destilada estéril y a las que fueron tratadas con fertilizante. La altura fue uno de los parámetros morfológicos que expresó mayor claridad el efecto del ensayo y que puede visualizarse a simple vista, con 80.20 y 107.85 cm a los 36 y 56 días de realizado el trasplante respectivamente (Figura 1). Esto se debió probablemente a la existencia de un sinergismo entre las plantas de arroz y las bacterias inoculadas, permitiendo la fijación biológica de N_2 y su posterior absorción por parte de las plantas. Según algunos autores, los rizobios, entre otros diazotrofos, son capaces de producir vitaminas hidrosolubles del grupo B, lo cual es también un factor que estimula el factor de crecimiento de las plantas, específicamente en longitud del tallo, producción de materia seca, así como la capacidad de absorción de nutrientes¹⁶.

En cambio, el menor efecto de la inoculación independiente de ambas bacterias, pudo deberse a que las cepas no encontraron el medio adecuado en la rizófora, ya que, para que los microorganismos puedan asociarse íntimamente con las raíces, tienen que escapar de los mecanismos de defensa de la planta y encontrar condiciones nutritivas y ambientales adecuadas para su crecimiento. La dinámica de colonización de las raíces por las bacterias inoculadas es esencial para su establecimiento efectivo, siendo un factor crítico para la estimulación del crecimiento vegetal.

Por otro lado el tratamiento 6 que es la asociación de ambas bacterias más urea y fosfato diamónico presenta una mayor altura de la planta con 92.48 y 115.87 cm a los 36 y 56 días respectivamente de realizado el trasplante, en comparación a los demás tratamientos (Fig. 1), pues se piensa que por la enzima ureasa, una enzima que abunda en el suelo, aunque la enzima proveniente de estas fuentes se degrada rápidamente por la acción microbiana y es *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 quienes desempeñan el papel de fijar el nitrógeno de la atmósfera, y además utilizaría la urea inoculada como fertilizante y son capaces de llevar a cabo esta hidrólisis para la producción de amonio, la cual sería absorbida por la planta.

Otras características que pueden favorecer el crecimiento de estas plantas es la producción de sideróforos, los que tienen afinidad por el hierro, secuestrando a este elemento, convirtiéndolo en factor limitante para grupos de microorganismos patógenos, también producen sustancias que inducen la resistencia sistémica en algunas plantas; jugando un papel importante para el control biológico de algunas enfermedades en las plantas.

Las plantas tratadas con las bacterias *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 presentaron un mayor macollamiento con un número promedio de 15.42 a los 56 días (de realizado el trasplante) con respecto a las plantas inoculadas con agua destilada (Fig. 2), esto se puede deber a que la inoculación mixta de ambas bacterias estimula una mayor absorción de nitrógeno en forma amónica especialmente en los estados tempranos de crecimiento, ya que los productos de la fotosíntesis son preferencialmente usados para síntesis de proteínas, producción de vainas de las hojas y de macollas. Además existe una correlación positiva entre la cantidad de nitrógeno absorbido en los estados tempranos de crecimiento y el número de macollas efectivas por m² [17].

Por otra parte un óptimo contenido de nitrógeno desde esta etapa hasta la formación de panícula puede asegurar una adecuada densidad de panículas fértiles al momento de floración, lo que conduciría a una mayor productividad.

Así mismo al evaluar el peso fresco de la parte aérea y radicular, se encontró un mayor incremento en el tratamiento con *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 a los 36 y 56 días respectivamente (de realizado el trasplante) con respecto a las plantas inoculadas con agua destilada y sobre las plantas que fueron inoculadas con una sola bacteria (Figs. 3 y 4). El agua es importante cuantitativamente ya que ella constituye el 80-90 % del peso fresco de muchas plantas herbáceas y más del 50% del peso fresco de las plantas leñosas. El agua es parte importante del protoplasma, como también de las proteínas y moléculas de lípidos; una reducción en el contenido de agua en estos componentes de la célula, por debajo de un nivel crítico causa cambios en la estructura celular y finalmente la muerte. Además permite que ocurra la translocación de los elementos disueltos, es un solvente en el cual gases, minerales y otros solutos entran a las plantas¹⁸.

Con respecto a los resultados obtenidos del peso seco de la parte aérea y radicular de las plantas inoculadas con ambas cepas de *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01, se observó que juntas promovieron un mayor crecimiento significativo sobre las plantas tratadas con agua destilada y sobre las plantas que fueron inoculadas con una sola bacteria a los 56 días de realizado el trasplante (Figs. 5 y 6). Esto puede deberse a que tanto *R. etli* como *B. yuanmingense* producen fitohormonas como las auxinas, las cuales aumentan el número de raíces laterales, al igual que el tamaño de las mismas¹⁹. También cabe destacar que hay estudios sobre *B. yuanmingense* para producir AAC diaminasa, compuesto que reduce el nivel de etileno en las raíces de las plantas, incrementando de esta manera la longitud y el crecimiento de raíces²⁰. Además, el ácido indol acético (AIA), las giberelinas y citoquinas producidas por *R. etli* y *B. yuanmingense* presentes ya sea en la rizosfera o en los tejidos de las plantas, estimulan un mayor desarrollo de la raíz y una mejor capacidad de absorción de los nutrientes por parte de las raíces resultando beneficioso para las plantas de arroz.

El aumento del peso seco de la parte aérea en las plantas inoculadas con *R. etli* Rf 188-03 a comparación de las plantas inoculadas con agua destilada, podría deberse a que *R. etli* podría ser capaz de disolver los fosfatos del suelo con lo cual aumentó la producción de la materia seca de la planta aunque también mecanismos como la producción de sideróforos²¹ y la producción del AIA estarían implicados. Otras investigaciones demostraron incrementos de 42% de la materia seca de la parte aérea y de 49% de la materia seca de raíz en plantas no leguminosas inoculadas con *R. etli*. Dichos investigadores mencionan que el efecto benéfico de *R. etli* en plantas no leguminosas puede deberse a los mecanismos descritos anteriormente²².

Si bien *R. etli* Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 no son bacterias específicas para *Oryza sativa* "arroz" var. NIR, estudios han demostrado que los rizobios no solo colonizan la superficie de las raíces sino también las células lisadas de la corteza de la raíz y el espacio intercelular del centro de las células cilindro de las raíces²³. Es así que nuestros resultados nos demuestran que existe una respuesta positiva y un mayor rendimiento en la aplicación asociativa de ambas bacterias. Esto resulta importante para reducir los costos de producción y disminuir el daño a la naturaleza, además de poder incrementar los rendimientos sin la necesidad de incorporar fertilizantes en abundancia que causan un negativo impacto sobre la salud y el medio ambiente.

CONCLUSIÓN

- La inoculación mixta de *R. etli* Rf 188 - 03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 tiene mayor efecto sobre el crecimiento aéreo y radicular de las plantas de *Oryza sativa* var. NIR en comparación a las plantas tratadas con agua destilada estéril, con fertilizante químico y con la inoculación independiente de *R. etli* Rc Rf 188-03 y *B. yuanmingense* Rc 391-01 en condiciones de laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rojas J, Moreno N. Producción y formulación de prototipos de un biofertilizante a partir de bacterias nativas asociadas al cultivo de arroz (*Oryza sativa*). Rev Colomb Biotecnol 2008; 10(2): 50-62.
2. Obando D M. Respuesta fisiológica del frijol caupí (*Vigna guiculata* (L.) Walp) a la coinoculación de bacterias diazotróficas de los géneros *Azotobacter* y *Rhizobium* en suelos del Departamento del Cesar (Colombia). Tesis de Magister en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, 2012.
3. Portal de ministerio de agricultura y riego, Lima: Ministerio de Agricultura y Riego; 2013. www.minag.gob.pe/portal/sector-agrario/agricola/cultivos-de-importancia-nacional/arroz/producci%C3%B3n?start=7
4. Rariz G, Ferrando L, Fernández A. Aislamiento de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno en plantas de arroz cultivadas en diferentes suelos. 7mo Congreso de Medio Ambiente; 2012 mayo 22-24; La Plata. Argentina: Universidad de la República (UdelaR); 2012.
5. Guía de estudio. Morfología de la Planta de Arroz. Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT, Cali, Colombia Abril 2005.
6. Prochazka G. Reseña de la producción y comercialización del arroz en el Perú y propuesta metodológica para evaluar pérdidas poscosechas. Publicación Miscelánea N° A3/PE-88-011 ISSN-0534-0591. Lima: Perú; 1988.
7. Hernández W I. Aislamiento e identificación de cepas de *Azospirillum*, y evaluación de su capacidad para suplir las necesidades de nitrógeno en plantas de *Oryza sativa* (arroz). Informe de Bachiller en Ingeniería y Biotecnología. Universidad de Costa Rica. 2010.
8. García F, Muñoz H, Carreño C, Mendoza G. Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L. "arroz" en Lambayeque. Scientia Agropecuaria 2010; 1(2): 107-116.
9. Armenta A, García C, Camacho J, Apodaca M, Gerardo L et al. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. Ra Ximhai 2010; 6(1): 51-56.
10. Díaz P, Márquez E. Validación de los biofertilizantes *Azotobacter*, *Rhizobium* y fosforina en cuatro sistemas de cultivos en condiciones de producción. Revista CIGET Pinar del Río 2011; 13(2).
11. Santillana N, Arellano C, Zuñiga D. Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* miller). Redalyc 2005; 4(1-2): 47-51.
12. Mhadhbi H, Jebara M, Limam F, Elarbi A. Rhizobial strain involvement in plant growth, nodule protein composition and antioxidant enzyme activities of chickpea-rhizobia symbioses: modulation by salt stress. Plant Physiology and Biochemistry 2004; 42:717-722.
13. Santillana N, Zúñiga D, Arellano C. Capacidad promotora del crecimiento en cebada (*Hordeum vulgare*) y potencial antagónico de *Rhizobium leguminosarum* y *Rhizobium etli*. Agrociencia Uruguay 2012; 16 (2).
14. Sotelo C, Iglesias M, Morzant E. Inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* en el cultivo de trigo (*Triticumaestivum*). UNNE, 2006.
15. Fugita K, Ofusu-Budu K, Ogata S. Biological nitrogen fixation in mixed legume-cereal cropping systems. Plant and Soil 1992; 141: 155 - 175.
16. Bécquer C, Nápoles J, Álvarez O, Ramos Y, Quintana M, Galdo Y. Respuesta de diferentes variedades de cereales a la inoculación con *Bradyrhizobium* sp. Rev Mex Cienc Agríc 2012; 3(1).
17. Rios DK, Britto R, Delgado H. Evaluación del rendimiento y sus componentes en genotipos de cebada (*Hordeum vulgare* L.) Diferenciados por su tipo de espiga y grano. Rev UDCA Act & Div Cient , 2011; 14(2) 55 – 63.
18. Azcon J, Talon M. Fisiología y bioquímica vegetal. Interamericana Mac Grawillill. Madrid. 1993.
19. Ahmad I, Pichtel J, Hayat S. Plant-Bacteria Interactions. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2008.

20. Esquivel R, Gavilanes M, Cruz R, Huante P. Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias. *Rev. Fitotec Mex* 2013; 36 (3): 251 – 258.
21. Guerinot ML. Iron uptake and metabolism in the rhizobia/legume symbioses. *Plant Soil* 1991; 130: 199–209.
22. Gutierrez A, Martinez E. Natural endophytic association between *Rhizobium etli* and maize (*Zea mays* L.). *J Biotechnol* 2001; 91: 117-126.
23. Bécquer CJ, Salas B, Archambault D, Slaski J, Anyia A. Inoculación de trigo (*Triticum aestivum*, L.) con rizobios adaptados a ecosistemas ganaderos de Alberta, Canadá *Rev Pastos y Forrajes* 2007; 30(1): 1-4.