

Efecto de diferentes bacterias aisladas de rizósfera de *Caesalpinia spinosa* en la germinación de diferentes especies vegetales cultivados

KATTY OGATA¹, CONSUELO ARELLANO² Y DORIS ZÚÑIGA¹

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología Marino Tabusso. Dpto. de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

² Research Assistant Professor, Dept Acad. Estadística, North Carolina State University. Raleigh, EE.UU.

Email: kappyta@gmail.com, dzuniga@lamolina.edu.pe, carellanou@gmail.com

RESUMEN

Se utilizaron cepas de *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azotobacter*, y actinomicetos de la rizósfera de árboles de “tara” muestreados en la provincia de Ambo departamento de Huanuco, como inoculantes para la germinación de semillas de diferentes cultivos: “alfalfa” (*Medicago sativa*), “tara” (*Caesalpinia spinosa*), “pallar” (*Phaseolus lunatus*) var. Sieva y “frijol” (*Phaseolus vulgaris*) var. Canario camanejo y var. Caraota con el fin de observar cómo estos microorganismos influyen en la germinación de los cultivos antes mencionados. Se observó que la mayoría de las cepas probadas incrementaron el porcentaje de germinación de los cultivos en comparación al control sin inocular. La cepa rP2N3, perteneciente al género *Rhizobium*, incrementó significativamente el porcentaje de germinación de “tara” y “alfalfa” de las semillas evaluadas en contraste al control sin inocular. Habiendo sido probadas estas cepas en análisis previos como productores de ácido indolacético y solubilizadores de fosfatos, se puede sugerir que estas bacterias pueden ser utilizadas para ensayos a nivel in Vitro y de invernadero como posibles promotores del crecimiento vegetal.

Palabras claves: *Rhizobium*, germinación, *Caesalpinia spinosa*, bacterias promotoras de crecimiento vegetal

ABSTRACT

Plant Growth Promoter Rhizobacter (PGPR) Bacteria strains *Pseudomonads sp*, *Rhizobium sp*, *Bradyrhizobim sp*, *Azotobacter sp* and actinomycetes were sampled from the rizosphere of the tara tree growing in the Ambo province – Huanuco, Peru and used as seed inoculants for the following crops: “alfalfa” (*Medicago sativa*), “tara” (*Caesalpinia spinosa*), “frijol” (*Phaseolus lunatus* var. Sieva and *Phaseolus vulgaris* var. Camanejo and var. Caraota) to study the effects of these microorganisms on the seed germination of these plants. Evaluations of seed germination in

all plants inoculated with all of the microorganism showed that most of these isolates increase the germination percentage of the probed seeds compared to the control (natural germination, without microorganism inoculant). It is shown that the Rhizobium strain rP2N3 increases significantly the germination percentage of tara and alfalfa when compared to the control without inoculation. Results suggest that these bacteria possibly have as well a potential as Plant Growth Promoter Rhizobacter (PGPR) to be employed in in vitro or greenhouse essays.

Key words: Rhizobium, germination, Caesalpinia spinosa, Plant Growth Promoter Rhizobacter

La *Caesalpinia spinosa*, comúnmente conocida como “tara” o “taya”, es una planta producida en varias zonas del país, que crece entre los 1,000 y 2,900 m.s.n.m., siendo sus principales productores los departamentos de Cajamarca, La Libertad, Ayacucho, Huancavelica, Apurímac, Ancash y Huánuco. Ésta es una especie forestal nativa importante para la economía de muchas familias campesinas, especialmente para aquellas que se encuentran ubicadas en la sierra peruana (IDESI, 2004) debido a la comercialización de sus frutos, los que vienen desarrollando desde hace muchos años, un mercado nacional, ligado a la compra y venta de vainas entre productores y acopiadores, e internacional para sus dos principales derivados: el polvo o harina y la goma de “tara”, mundialmente conocidos por su alto contenido de taninos; así como sus otros subproductos utilizados en diferentes industrias como las curtiembres, alimentos y medicinas; siendo el Perú uno de los principales productores de “tara” en el mundo, registrándose en nuestro país más del 80% de la producción mundial, habiéndose generado para el año 2006 un valor de exportación de US\$ 119,142,48.83 FOB (MINAG, 2007); lo que demuestra una tendencia positiva de este producto a la exportación. A nivel nacional, la obtención del fruto se realiza en bosques naturales y en algunas zonas, en parcelas. Sin embargo, la mayor producción proviene de plantas silvestres que no poseen manejo particular (Schiaffino, 2004), siendo éste un factor importante a tomar en cuenta para mejorar la calidad de fruto y de la planta en general. Actualmente, los países de Europa y Asia están dando gran valor a la adquisición de los subproductos de la “tara”, exigiendo en su cultivo el uso de tecnologías orgánicas que hoy son tan importantes en la lucha contra la contaminación ambiental. Por otro lado, se ha observado que el empleo de microorganismos tiene un alto potencial de acción sobre el crecimiento y desarrollo de diversas plantas (Olalde & Aguilera, 1998), habiéndose probado como una alternativa para el manejo sostenible de diferentes cultivos.

De la diversidad de especies de microorganismos que componen la microflora del suelo, muchas producen compuestos con actividad biológica que son capaces de interferir con el desarrollo de ciertos patógenos (Ahi et. al., 1986; Neilands & Leong, 1986). La interacción de diversas especies vegetales y ciertos microorganismos capaces de promover la germinación y el desarrollo vegetal ha tomado gran importancia en estos últimos años, encontrándose que en este tipo de interacciones se promueve tanto el crecimiento de la raíz como la capacidad de absorción de sustancias nutritivas por parte de la planta (Schroth & Hancock, 1982; Chiarine et. al., 1998). A estos microorganismos se les denomina Plant Growth Promoter

Rhizobacteria (PGPR) y como su nombre lo indica son bacterias de vida libre o simbiótica que mediante diversos mecanismos benefician a las plantas en diferentes aspectos como el incremento de la germinación, colonización de raíces, estimulación del crecimiento de las plantas, control biológico, inducción de la resistencia a patógenos, producción de fitohormonas y mejoramiento en la asimilación de agua y nutrientes (Essaid et al., 2000). Díaz et al., (2001) evaluó el efecto de 30 cepas bacterianas en la germinación y el crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. Longifolia) encontrando diferencias altamente significativas entre los efectos de los tratamientos, obteniendo un incremento en la germinación del 36.5% con respecto al control sin inocular, a su vez se pudo comprobar que estas mismas plantas al ser inoculadas con las cepas probadas en la germinación promovían el crecimiento de estas a nivel de campo. Otros autores como Tang (1995) y Carrillo et al. (2000) inocularon plantas de gramíneas y de tomate respectivamente con diferentes microorganismos PGPR obteniendo un incremento parcial de la germinación a comparación del control. Dado que un buen crecimiento y desarrollo de la planta se encuentra influenciado por la capacidad de la semilla de poder germinar y alcanzar un buen desarrollo de raíces en sus primeras etapas de vida; con este trabajo se buscó determinar el efecto de la inoculación de diferentes bacterias en el porcentaje de germinación y desarrollo de la raíz en esta etapa, con la expectativa de utilizar la información generada en investigaciones posteriores para establecer interacciones que puedan beneficiar al crecimiento y producción de los diferentes cultivos. Cabe resaltar que en esta investigación se quiso observar la influencia positiva de diferentes microorganismos obtenidos de la rizósfera de “tara” en semillas de esta misma especie y también en otras leguminosas como el “frijol”, “pallar” y “alfalfa”, que han sido reportadas como cultivos que crecen en asociación mixta con la “tara” y que tienen gran valor económico para su explotación de acuerdo a los diferentes pisos ecológicos (TECNIDES, 1994).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 9 cepas bacterianas correspondientes a *Bradyrhizobium* sp, *Rhizobium* sp, *Azotobacter* sp, *Pseudomonas* sp y actinomicetos aisladas de la rizósfera de plantas de *C. spinosa* de la zona de Huanuco, reportado por Zúñiga (2007) y caracterizadas bioquímicamente (Ogata & Zúñiga, 2008). Las semillas utilizadas para el experimento (*C. spinosa*, *Phaseolus vulgaris* var. Canario camanejo y var. Caraota, *P. lunatus* var. Sieva y *Medicago sativa*), fueron previamente desinfectadas con alcohol de 96° durante 2 a 5 minutos, dependiendo del tamaño de la semilla utilizada y luego enjuagadas con agua destilada estéril hasta eliminar los residuos de alcohol (Zúñiga, 2008). Por otro lado, se prepararon los inóculos de las cepas aisladas de *Bradyrhizobium* spp: brTN3(1), brP3N4, *Pseudomonas* spp: ps52b, *Mesorhizobium ciceri* (cepa control), *Rhizobium* spp: rTN3(3), rP2N3) las cuales se sembraron en caldo de cultivo LMC y se incubaron por un periodo de 1 a 5 días (dependiendo de la cepa) hasta alcanzar una concentración de 10^6 cel/ml, momento en el cual se utilizaron como medio para embeber las semillas de los diferentes cultivos. El tiempo de imbibición varió de 30 a 45 minutos dependiendo del tipo de semilla. El control

fue embebido en medio de cultivo estéril, luego de comprobar que éste no interfería en la germinación natural de las plantas evaluadas.

Inmediatamente después de la imbibición, las semillas fueron colocadas con ayuda de una pinza estéril, en placas petri con papel de filtro, añadiéndosele 10 ml del inóculo respectivo a una concentración de 10^6 cel/ml, para mantener la humedad adecuada durante el proceso de germinación. Luego, las semillas se incubaron a 25°C . Se utilizaron diferentes cantidades de semillas por placa dependiendo del tamaño de estas, 20 semillas en el caso de frijol y tara, 15 en pallar y 50 en alfalfa.

El diseño experimental utilizado fue el completamente aleatorio con tres repeticiones cada uno (Zúñiga, 1997). Los tratamientos correspondieron a las cepas a inocular más un control sin inocular: Se utilizaron 10 cepas en las semillas de tara (*C. spinosa*), 8 cepas en las semillas de frijol var. Canario camanejo (*P. vulgaris*) y 9 cepas en las semillas de frijol var. Caraota, 7 cepas en las semillas de pallar (*P. lunatus*) var. Sieva y 9 cepas en las semillas de alfalfa (*M. sativa*). Las evaluaciones se realizaron cada 24 horas (entre 1 a 10 días dependiendo del tipo de semilla evaluada) en las cuales se contó el número de semillas germinadas. Los resultados se expresaron en % de germinación (Zúñiga, 1997). También se evaluó el desarrollo radicular de todas las semillas y el tiempo de germinación.

La geminación de semillas se analizó estadísticamente mediante el ajuste de un modelo de regresión logística según Sprent (1998) con el logit del porcentaje de geminación como variable dependiente (respuesta), y la cepa de inóculo como variable independiente, con el control como nivel de referencia para las comparaciones entre cepas y el control sin inocular, a través de la prueba de comparaciones de medias de tratamiento con un control de Dunnett. Para longitud de raíz se corrió un análisis de varianza de una sola vía (Cepas) con tres repeticiones (placas petri) y prueba de comparaciones múltiples de medias de n tratamiento con un control de Dunnett para comparar las cepas con el control sin inocular. Los análisis estadísticos se realizaron con el software de acceso libre R (RDCT, 2008).

La regresión logística es utilizada para analizar diferencias entre las cepas en su efecto sobre el porcentaje de germinación en los distintos cultivos estudiados. La proporción observada de semillas germinadas en cada placa petri, respuesta a modelar, se transforma a un logit antes de ajustar el modelo de regresión. Logit de la proporción de semillas germinadas corresponde a $\log\left(\frac{p}{1-p}\right)$, donde p es la proporción de semillas germinadas, $0 \leq p \leq 1$.

El modelo de regresión logística para el cultivo de tara corresponde a:

$$\begin{aligned} \log\left(\frac{p}{1-p}\right) = & \beta_0 + \beta_1 (\text{Trat} = \text{Control}) + \beta_2 (\text{Trat} = \text{brTN3}(1)) + \beta_3 (\text{Trat} = \text{brP3N4}) \\ & + \beta_4 (\text{Trat} = \text{ps52b}) + \beta_5 (\text{Trat} = \text{M. ciceri}) + \beta_6 (\text{Trat} = \text{rTN3}(3)) \\ & + \beta_7 (\text{Trat} = \text{rP2N3}) + \beta_8 (\text{Trat} = \text{act72}(3)) + \beta_9 (\text{Trat} = \text{azb115}) \\ & + \beta_{10} (\text{Trat} = \text{azriz2} - 2) \end{aligned}$$

y de manera similar para los demás cultivos. Luego de calcular los valores estimados para los coeficientes de regresión, se halla el valor predicho del logit para un determinado tratamiento,

ya sea el control sin inocular o una de las cepas, y se aplica la transformación inversa para obtener el valor estimado del promedio de la proporción de semillas germinadas para el tratamiento en particular.

$$\hat{p}_i = \frac{1}{1 + \exp(-\text{logit}_i)}$$

que corresponde al valor estimado del promedio de la proporción de semillas germinadas de un cultivo determinado que recibe el *i*-ésimo tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En *P. vulgaris* var. Canario camanejo se pudo observar que a las 48 horas, que de siete cepas inoculadas, dos (28.6%) incrementaron su germinación hasta en un 33.3% con respecto al control, tres de ellas (42.9%) no tuvieron ningún efecto significativo con respecto al control sin inocular y dos (28.6%) la redujeron (tabla 1). Díaz et al. (2001) encontraron que el (13.3%) de 30 cepas bacterianas que probaron redujeron la germinación de semillas de lechuga, esto puede estar relacionado a la dosis de metabolitos secundarios producidos por la bacteria y a que la interacción de estas cepas no necesariamente tienen el mismo efecto en todas las plantas. Los reguladores para el crecimiento vegetal, producto del metabolismo secundario de las bacterias, tienen una influencia muy importante en la respuesta del crecimiento de la planta. En este sentido, la aplicación exógena de auxina, por ejemplo, puede estimular el crecimiento vegetal a bajas concentraciones en determinadas especies vegetales; pero es posible que tenga una acción inhibitoria a altas concentraciones (Scott 1972, Thimann 1972, Elliott 1982 Simpson 1986). Loper y Schroth (1986) demostraron una correlación negativa entre la habilidad de las rizobacterias de producir ácido indolacético in Vitro y su efecto en la elongación de la raíz de caña de azúcar sugiriéndose así que las bacterias rizosféricas pueden actuar como “menos patógenas” por la producción de fitohormonas dependiendo del tipo de especie y la concentración de este metabolito producido.

A las 72 horas en cambio, se observó que, excepto la cepa act72 (3), el porcentaje de germinación de todos los tratamientos, incluido el control sin inocular, alcanzó entre 81% y 98%, no existiendo ninguna diferencia significativa entre ellos; aunque se observó una ligera tendencia positiva en la mayoría de las cepas, al mostrar porcentajes de germinación superiores al 90% en comparación al control (81.7%) (tabla 1).

Con respecto a la evaluación del desarrollo radicular, en todos los cultivos, se evaluó la longitud de la raíz primaria, órgano que desempeña el papel central de la planta; por ser el primero colonizado y por su importancia en la asimilación de nutrientes (Mishra & Choudhuri, 1998; Carrillo et. al., 2000), lo que influye en el posterior desarrollo de la planta (Enebak et. al., 1998). En frijol Canario camanejo, el 57.1% de las cepas inoculadas mostraron tener un efecto significativo positivo en la longitud radicular al final de la germinación (figura 1), siendo estas mismas cepas las que alcanzaron porcentajes de germinación mayores de 90 % en el cultivo al final de este ensayo (tabla 2).

En el análisis de germinación y longitud de raíz primaria para *P. vulgaris* var. Caraota, se observaron que dos de los nueve tratamientos aplicados (22.2 %) generaron un incremento significativo de hasta 137.5% en la germinación de la semilla con respecto al control, tanto a las 48 como a las 72 horas (tabla 3); el 77.8% restante presentaron un comportamiento similar al control, así también, el comportamiento fue semejante respecto a la longitud de la raíz primaria. Cabe resaltar, que el porcentaje de germinación en estas semillas fue bajo y osciló entre el 25 y 60% en todos los tratamientos aplicados (inclusive el control), en comparación con las semillas de frijol var. Canario camanejo que alcanzaron altos porcentajes a las 72 horas.

En *P. lunatus* var. Baby, a las 48 horas no se observó ningún efecto positivo significativo en la germinación de las cepas inoculadas, respecto al control. Así a las 72 horas se advirtió que la cepa rP2N3, logró diferenciarse significativamente, alcanzando un valor de 61.7% (tabla 4). Es importante señalar que los resultados de germinación obtenidos en este ensayo resultaron relativamente bajos en comparación con lo encontrado por Mayo & Hernández (2002); que en *P. lunatus* var. Criollo iqueño y var. Sieva, obtuvieron un porcentaje de germinación de 82.5 y 100% respectivamente en la evaluación realizada a las 72 horas en semillas sin inocular; estos valores se pueden explicar por las diferencias entre las variedades y la calidad de las semillas utilizadas en ambos experimentos; siendo también un factor muy importante a tener en consideración el tiempo de imbibición. Para las pruebas de germinación con esta especie vegetal, Mayo & Hernández (2002) sometieron sus semillas a un periodo de imbibición de cuatro y dos horas para cada variedad utilizada; mientras que en este trabajo, las semillas sólo se mantuvieron en imbibición por un periodo máximo de 45 minutos. Este corto tiempo de “imbibición” era para lograr que la semilla adhiriera a su superficie los microorganismos en estudio, mas no que el medio líquido añadido influya en la germinación o tiempo de emergencia de la radícula en las semillas evaluadas (Darrant, 2007).

Por otro lado, en semillas de alfalfa se ha podido observar que las cepas aplicadas mejoran notablemente el porcentaje de germinación en el 50% de los tratamientos utilizados a las 24 horas; alcanzando un máximo de 82.5 % de germinación (tabla 5). De todas las semillas a las que se les ha aplicado estos microorganismos, la alfalfa parece tener una respuesta más rápida a los exudados celulares producidos por la interacción con estos microorganismos (figura 2), esto debe estar influenciado por el periodo corto de vida que tiene esta planta. La semilla de alfalfa podría considerarse como semilla indicadora para realizar mayores “screening” de diferentes cepas microbianas, para así poder observar una respuesta rápida de las bacterias a nivel de plántulas y poder seleccionar las mejores para un ensayo posterior de invernadero.

Finalmente, en las semillas de tara, tres de las nueve (33.3%) cepas inoculadas lograron un incremento significativo en el porcentaje de germinación alcanzando valores de 70 a 75% (figura 3), estas cepas correspondieron a la cepa de rizobio rP2N3, cepa azb115 de azotobacter y *M. ciceri*, (tabla 6). La longitud de la raíz primaria en las semillas de tara presentó diferencias de medias bastante homogéneas para todas las cepas y el control (tabla 7). Sin embargo, durante los primeros días se pudo apreciar que determinadas cepas influyeron positivamente en el crecimiento radicular durante el proceso de germinación (figura 3).

Las diferencias presentadas entre las respuestas de cada una de las especies vegetales a las cepas inoculadas, se dan principalmente por las interacciones generadas entre ambos. Cada cepa durante la fase estacionaria (periodo en el cual es inoculada y en donde genera metabolitos secundarios) libera distintas sustancias como fitohormonas, antibióticos, ácidos orgánicos y enzimas que podrían beneficiar al cultivo, siempre y cuando se encuentren en cantidades necesarias para el crecimiento y desarrollo de la planta (Loper & Schroth, 1986); de la misma manera, las plantas producen diferentes moléculas químicas y sustancias que atraen a determinados microorganismos (quimiotaxis) y generan las condiciones adecuadas para su establecimiento y multiplicación (Dakora & Phillips, 2002). Para una respuesta positiva de la planta a la cepa aplicada, debe existir entonces cierta afinidad entre los componentes generados por ambos organismos, caso contrario, se podrían generar interacciones que reduzcan la germinación, crecimiento o desarrollo de la planta (Alstrom & Burns, 1989; Carrillo et al., 2000). Es por esto que en cada especie vegetal se observan respuestas diferentes para un mismo tratamiento aplicado, inclusive entre las dos variedades de frijol.

De todos los cultivos evaluados con las diferentes cepas y tratamientos, podemos señalar, que hasta el momento, la cepa rP2N3 de *Rhizobium* podría ser utilizada para un sistema de cultivo asociado de tara con cualquiera de las leguminosas evaluadas en este ensayo (tabla 8 y 9), ya que esta cepa favorece un incremento significativo en la germinación de la mayoría de semillas estudiadas y en las que no existe una diferencia estadísticamente significativa se ha podido apreciar porcentajes de germinación superior al control. Para el caso de un sistema de monocultivo e incluso a nivel de almácigos podrían utilizarse las cepas rP2N3 o la de *Azotobacter* azB115. Se recomienda realizar estudios en estadios posteriores a la germinación para evaluar el efecto de las diferentes cepas en el crecimiento de la plántula a nivel de almácigo.

CONCLUSIONES

1. La cepa de *Rhizobium* rP2N3 incrementó significativamente la germinación de semillas de tara y alfalfa al final de las pruebas la germinación.
2. Las cepas de *Rhizobium* rTN3(3) y de *Bradyrhizobium* brTN3(1), brP3N4 permitieron alcanzar un mayor porcentaje de germinación en menor tiempo, en frijol Canario camanejo y Caraota.
3. Algunas cepas no tuvieron ningún efecto significativo en la germinación de las semillas evaluadas.
4. Las cepas de *Bradyrhizobium* brTN3(1), brP3N4, *M. ciceri* y de *Pseudomonas* ps52b, aumentaron significativamente la longitud de la raíz primaria del frijol Canario camanejo además de mejorar el porcentaje de germinación. En todas las semillas se observó de manera cualitativa un aumento en el número de raíces laterales o pelos radiculares al utilizarse las bacterias.
5. El incremento de la germinación por diferentes cepas estudiadas en este trabajo, junto con la producción de ácido indolacético y solubilización de fosfatos realizado en un trabajo

previo, indica su potencial como inoculantes microbianos para los cultivos de tara, alfalfa, frijol Canario camanejo y caraota.

AGRADECIMIENTOS

Concytec-procyt 2005, FDA Biol-111 / UNALM

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahi, P., C. Voisard & G. Défago. 1986.** Iron bound – siderophores, cyanic acid, and antibiotics involved in suppression of *Thielaviopsis basicola* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Journal Phytopathology* 116: 121 – 134.
- Alstrom, S. & R. G. Burns. 1989.** Cyanide production by rhizobacteria as a possible mechanism of plant growth inhibition. *Biol. Fert. Soils* 7: 232 – 238.
- Asociación Tecnología y Desarrollo (TECNIDES). 1994. Estudio sobre cultivos in vitro de “tara” (*Caesalpinia spinosa*). Documento emitido por la FAO. Lima, Perú. 47pp.
- Barreto, D., N. Valero, A. Muñoz & A. Peralta. 2007.** Efecto de microorganismos rizosféricos sobre germinación y crecimiento temprano de *Anacardium excelsum*. *Zonas Áridas* 11(1): 240 – 250.
- Carrillo, G., J. Juárez, D. Ruiz & R. Müller. 2000.** Aumento del rendimiento de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) cuando la raíz se desarrolla colonizada por microorganismos. *Biotec. Aplic.* 17: 171 – 176.
- Chiriane, L., A. Bevivino, S. Yabacchioni & C. Dalmastri. 1998.** Inoculation of *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter* sp. on *Sorghum bicolor*: root colonization and plant growth promotion of dual strain inocula. *Soil Biol. Biochem.* 30: 81 – 87.
- Dakora, F. & D. Phillips. 2002.** Root exudates as mediators of mineral acquisition in low – nutrient environments. *Plant and Soil* 245: 35 – 47.
- Darrant Barreto, Nelson Valero, Adriana Muñoz & Arnaldo Peralta. (2007).** Efecto de microorganismos rizosféricos sobre germinación y crecimiento temprano de *Anacardium excelsum*. *Rev. Zona Áridas* 11(1): 240 – 250.
- Díaz, V. P., R. Ferra – Cerrato, J. J. Almaraz & G. Alcántara. 2001.** Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra.* 19 (4): 321 – 335.
- Elliott, M. C. 1982.** The regulation of plant growth. In: Thomas TH (ed) Growth regulator potential and practice. *BCPC Publications*, London. 57 – 98.
- Enebak, S. A., G. Wei, & J. W. Kloppper. 1998.** Effects of plant growth – promoting rhizobacteria on loblolly and slash pine seedlings. *Forest Science* 44(1): 139 – 144.
- Essaid, A. B., A. Belarbi, C. Hachet, J. Nowak & J. C. Audran. 2000.** Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth – promoting rhizobacteria. *FEMS Microb. Letters* 71 (4): 92 – 95.
- IDESI, DRA & MINAG. 2004.** Análisis participativo de la cadena de la tara de Ayacucho.

115 p.

- Loper J. & M. Scroth. 1986.** Influence of bacterial source of indole – 3 – acetic acid on root elongation of sugar beet. *Physiol. Biochem.* 76: 386 – 389.
- Mayo, J. y J. Hernández. 2002.** Infectividad y efectividad de cepas nativas de rizobios aisladas de la provincia de Ica en *Phaseolus lunatus* “pallar” var. Criollo Iqueño y var. Sieva. *Tesis de Biólogo*. Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica.
- Ministerio de Agricultura. 2007.** Datos de valor de exportación en el año 2006.
- Mishra, A. & M. A. Choudhuri. 1998.** Monitoring of phytotoxicity of lead and mercury from germination and early seedling growth indices in two rices cultivars. *Water, Air, and Soil Pollution* 114: 339 – 346.
- Neilands, J. B. & S. A. Leong. 1986.** Siderophores in relation to plant growth and disease. *Ann Rev Plant Physiol.* 37: 187 – 208.
- Ogata, K. & D. Zúñiga. 2008.** *Zonas Áridas* (En prensa).
- Olalde, P. V. y Aguilera L. L. 1998.** Microorganismos y Biodiversidad. *Terra* 16 (3): 289 – 292.
- R Development Core Team. 2008.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Schiaffino, J.C. 2004.** Programa de Desarrollo Sostenible “Estudio de mercado de tara”. Universidad del Pacífico, GOPA, IAK, Cajamarca – Perú.
- Schroth, M. N. & J. G. Hancock. 1982.** Disease suppressive soil and root – colonizing bacteria. *Science* 216: 1376 – 1381.
- Scott, T.K. 1972.** Auxins and roots. *Annu Rev Plant Physiol.* 23: 235-258.
- Simpson, D.G. 1986.** Auxin stimulates lateral root formation of container-grown interior Douglas-fir seedlings. *Can. J. For. Res.* 16:1135-1139.
- Sprent, P. 1998.** Data Driven Statistical Methods. Chapman & Hall. london.
- Tang, M. 1995.** Efecto de la inoculación de con *Azotobacter chroococcum* en la germinación y en la altura de las plántulas en dos leguminosas y dos gramíneas. *Pastos y forrajes* 18 (2): 145 – 150.
- Thimann, K.C. 1972.** The natural plant hormones in plant physiology. In: Steward FC (ed) The hormones. *Academic Press*, New York. 3 – 145.
- Zúñiga, D. 1997.** Contribución relativa de los simbioses en la fijación de nitrógeno por *Phaseolus vulgaris* en condiciones de estrés salino. *Tesis Doctoral*. Universidad de Granada. España.
- Zúñiga, D. 2007.** Leguminosas y Producción de Biofertilizantes en el Perú. En Biofertilizantes en Iberoamérica: Visión Técnica, Científica y Empresarial. Eds. M.L Izaguirre, C. Labandera y J. Sanjuán. 1era edición. Montevideo, Uruguay. 61-67.
- Zúñiga, D. 2008.** Manual de Microbiología Agrícola: *Rhizobium*, PGPR, indicadores de fertilidad e inocuidad. Universidad Nacional Agraria La Molina. 107 pp.

Tabla 1. Efecto de la inoculación de cepas nativas aisladas de suelo de Huanuco en el porcentaje de germinación de "frijol" Canario camanejo (*Phaseolus vulgaris* var. Canario camanejo) a las 48 y 72 h de germinación

Tratamientos	%Germ 48 h ¹	%Germ 72 h ¹
Control	51.7 (6.4) ²	81.7 (5.0)
brTN3(1)	85.0 (4.6)**	96.7 (2.3)
br P3N4	71.7 (5.8)	98.3 (1.7)
ps52b	60.0 (6.3)	91.7 (3.6)
M. ciceri	61.7 (6.3)	95.0 (2.8)
rTN3(3)	48.3 (6.4)	90.0 (3.9)
act72(3)	26.7 (5.7)*	68.3 (6.0)
rP2N3	16.7 (4.8)***	91.7 (3.6)

⁽¹⁾ Se realizó la prueba de Dunnett al nivel de significación $\alpha= 0.05$, para comparaciones de las medias de cada tratamiento con respecto al control sin inocular

⁽²⁾ Valor de error estándar

Tabla 2. Longitud de raíz primaria a las 72 horas de germinación de semillas de "frijol" Canario camanejo inoculadas con cepas nativas aisladas de suelo de Huanuco

Tratamiento	Medias	Diferencia entre media de tratamiento y control ¹	Intervalo de Confianza al 95% de la diferencia de tratamiento y control ¹
brTN3(1)	22.28	10.06***	[4.46 , 15.66]
br P3N4	22.18	9.96***	[4.36 , 15.57]
ps52b	19.19	6.97***	[1.37 , 12.57]
M. ciceri	18.41	6.20***	[0.59 , 11.80]
rTN3(3)	15.10	6.198	[0.60 , 11.80]
act72(3)	14.45	2.231	[-3.37 , 7.83]
rP2N3	12.98	0.762	[-4.84 , 6.36]

⁽¹⁾ Se realizó la prueba de Dunnett al nivel de significación $\alpha= 0.05$, para comparaciones de las medias de cada tratamiento con respecto al control sin inocular. Intervalos de confianza para la diferencia de la media de cada cepa con respecto a la media del control sin inocular según la prueba de Dunnett a un nivel de significación del 5%

Tabla 3. Efecto de la inoculación de cepas nativas aisladas de suelo de Huanuco en el porcentaje de germinación de "frijol" Caraota (*P. vulgaris* var. Caraota) a las 48 y 72 h.

Tratamientos	%Germ 48 h ¹	%Germ 72 h ¹
Control	13.3 (4.4) ²	26.7 (5.7)
brTN3(1)	25.0 (5.6)	38. (6.3)
br P3N4	51.7 (6.5) ^{***}	63.3 (6.2) ^{***}
ps52b	26.7 (5.7)	31.7 (6.0)
M. ciceri	33.3 (6.1)	43.3 (6.4)
rTN3(3)	50.0 (6.4) ^{***}	53.3 (6.4) [*]
act72(3)	15.0 (4.6)	28.3 (5.8)
rP2N3	21.7 (5.3)	48.3 (6.4)
azB115	18.3 (5.0)	25.0 (5.6)

⁽¹⁾ Se realizó la prueba de Dunnett al nivel de significación $\alpha=0.05$, para comparaciones de las medias de cada tratamiento con respecto al control sin inocular

⁽²⁾ Valor de error estándar

Tabla 4. Efecto de la inoculación de cepas nativas aisladas de suelo de Huanuco en el porcentaje de germinación de "pallar" baby a las 48 y 72 h.

Tratamientos	%Ger 48 h ¹	%Ger 72 h ¹
Control	41.3 (5.5) ²	46.3 (5.6)
brTN3(1)	52.5 (5.6)	58.8 (5.5)
br P3N4	26.3 (4.9)	37.5 (5.4)
ps52b	42.5 (5.5)	45 (5.6)
M. ciceri	18.8 (4.4) [*]	33.8 (5.3)
rTN3(3)	43.8 (5.5)	56.3 (5.5)
rP2N3	48.8 (5.6)	60.0 (5.5) [*]

⁽¹⁾ Se realizó la prueba de Dunnett al nivel de significación $\alpha=0.05$, para comparaciones de las medias de cada tratamiento con respecto al control sin inocular

Tabla 5. Efecto de la inoculación de cepas nativas aisladas de suelo de Huanuco en el porcentaje de germinación de "alfalfa" a las 24 h.

Tratamientos	%Ger 24 h ¹	% de Incremento con relación al control
Control	26.3 (3.5) ²	-
brTN3(1)	70.0 (3.6)	166.7***
br P3N4	52.5 (3.9)	100.0
ps52b	48.1 (3.9)	83.4
M. ciceri	41.9 (3.9)	59.5
rTN3(3)	28.1 (3.6)	7.2
rP2N3	66.9 (3.7)	154.9***
act72(3)	61.9 (3.8)	135.8***
azb115	82.5 (3.0)	214.3***

⁽¹⁾ Se realizó la prueba de Dunnett al nivel de significación $\alpha = 0.05$, para comparaciones de las medias cada tratamiento con respecto al control sin inocular.

⁽²⁾ Valor de error estándar

Tabla 6. Efecto de la inoculación de cepas nativas aisladas de suelo de Huanuco en el porcentaje de germinación de "tara" a los 10 d.

Tratamientos	%Ger 10 días ¹	% de Incremento con relación al control
Control	43.3 (6.4) ²	-
brTN3(1)	43.3 (6.4)	0.0
br P3N4	66.7 (6.1)	53.9
ps52b	46.7 (6.4)	7.7
M. ciceri	75 (5.6)	73.1***
rTN3(3)	63.3 (6.2)	46.2
rP2N3	68.3 (6.0)	57.7***
act72(3)	60 (6.3)	38.5
azb115	71.7 (5.8)	65.4***
azriz2-2	58.3 (6.4)	58.3

⁽¹⁾ Se realizó la prueba de Dunnett al nivel de significación $\alpha=0.05$, para comparaciones de las medias de cada tratamiento con respecto al control sin inocular. Porcentaje promedio de germinación a los 10 días. El valor promedio de tara para la cepa rP2N3 fue hallado mediante:

1) estimado del logit para rP2N3

$$\begin{aligned}\log it_{tara, rP2N3} &= \log\left(\frac{p_{tara, rP2N3}}{1-p_{tara, rP2N3}}\right) = -0.2680 + 1.0374 (\text{cepa} = rP2N3) \\ &= -0.2680 + 1.0374 \\ &= 0.7694\end{aligned}$$

2) cálculo del valor promedio de la proporción de germinación para la cepa rP2N3, o 68.3% para el porcentaje de germinación de semillas de tara tratadas con cepa rP2N3.

$$\hat{p}_{tara, rP2N3} = \frac{1}{1 + \exp(-\log it_{tara, rP2N3})} = \frac{1}{1 + \exp(-0.7694)} = 0.6833$$

⁽²⁾ Valor de error estándar

Tabla 7. Prueba de Dunnett con respecto al control sin inocular para longitud de raíz a los 10 días de germinación de semillas de "tara" inoculadas con cepas nativas aisladas de suelo de Huanuco.

Tratamientos	Medias	Diferencia entre media de tratamiento y control ¹	Intervalo de Confianza al 95%
brTN3(1)	23.50	-3.33	[-18.26, 11.61]
br P3N4	29.50	2.64	[-12.29, 17.57]
ps52b	27.80	0.88	[-14.05, 15.81]
M. ciceri	25.00	-1.84	[-16.77, 13.09]
rTN3(3)	24.20	-2.64	[-17.57, 12.29]
act72(3)	26.10	-0.74	[-15.67, 14.19]
rP2N3	29.30	2.38	[-12.55, 17.31]
azb115	29.97	3.10	[-11.83, 18.04]
azriz2-2	24.95	-1.92	[-16.85, 13.01]

⁽¹⁾ Se realizó la prueba de Dunnett al nivel de significación $\alpha=0.05$, para comparaciones de las medias de cada tratamiento con respecto al control sin inocular. Intervalos de confianza para la diferencia de la media de cada cepa con respecto a la media del control sin inocular según la prueba de Dunnett a un nivel de significación del 5%.

Tabla 8. Coeficientes del modelo logístico¹ para el porcentaje de germinación² de semillas, in vitro, como respuesta a las cepas aisladas de suelo de la provincia de Huanuco, para los diferentes cultivos estudiados.

Variables	"pallar" baby 48 h	Frijol Canario camanejo 48h	Frijol caraota 48h
Intercepto	-0.3536	0.0667	-1.8718***
M. ciceri	-1.1127**	0.4087	1.1787*
rP2N3	0.3036	-1.6761***	0.5866
brP3N4	-0.6794*	0.8613*	1.9385***
brTN3(1)	0.4537	1.6679 ***	0.7732
rTN3(3)	0.1023	-0.1334	1.8718***
ps52b	0.0514	0.3388	0.8602
act72(3)	-	-1.0783**	0.1372
azB115	-	-	0.3779
azriz2-2	-	-	-

⁽¹⁾ Nivel de referencia = Control. ² Porcentajes de germinación registrados al final de la germinación ("frijol" y "pallar" 48 horas).

Códigos de significación: * < 0.05, • < 0.1

$$\log\left(\frac{p}{1-p}\right)_{rP2N3} = -0.2680 + 1.0400 = 0.7720$$

$$\text{Prob}(\text{semilla germine})_{rP2N3} = p_{rP2N3} = \frac{e^{0.772}}{1 + e^{0.772}} = 0.6940$$

Tabla 9. Coeficientes del modelo logístico¹ para el porcentaje de germinación² de semillas, in vitro, como respuesta a las cepas aisladas de suelo de la provincia de Huanuco, para los diferentes cultivos estudiados.

Variables	"tara" 10d	"pallar" baby 72h	"frijol" Canario camanejo 72h	"frijol" caraota 72h	"alfalfa" 24h
Intercepto	-0.2683	-0.1503	1.4939***	-1.0116***	-1.0330*
M. ciceri	1.3669***	-0.5242	1.4505*	0.7433	0.7051*
rP2N3	1.0374**	0.5557	0.9040	0.9449 *	1.7355*
brP3N4	0.9614*	-0.3605	2.5836*	1.5581***	1.1331*
brTN3(1)	0.000	0.5039	1.8734*	0.5362	1.8803*
rTN3(3)	0.8148*	0.4016	0.7033	1.1451**	0.0947
ps52b	0.1347	-0.0504	0.9040	0.2425	0.9580*
act72(3)	0.6737	-	-0.7248	0.0836	1.5173*
azB115	1.1960**	-	-	-0.0870	2.5836*
azriz2-2	0.6047	-	-	-	-

⁽¹⁾ Nivel de referencia = Control. ⁽²⁾ Porcentajes de germinación registrados al final de la germinación ("frijol" y "pallar" 72 horas, "alfalfa" 24 horas, "tara" 10 días).

Códigos de significación: * < 0.05, • < 0.1

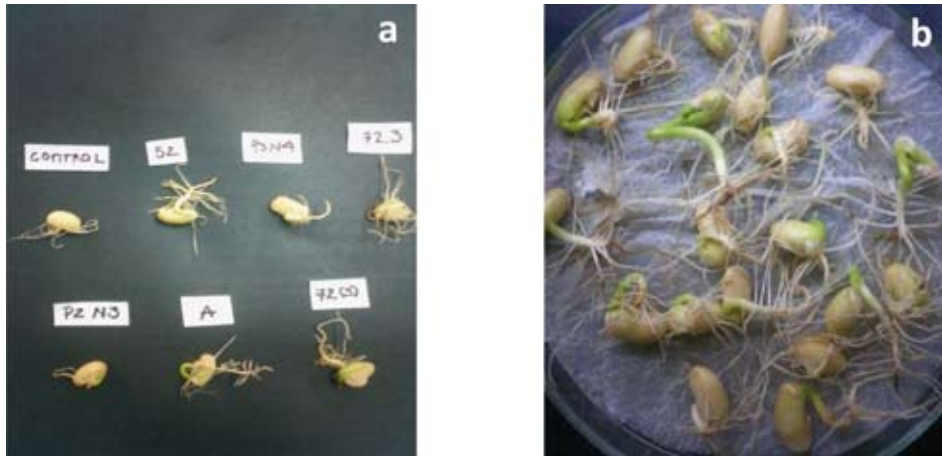


Figura 1. Germinación de semillas de frijol Canario camanejo. Semillas inoculadas con 6 cepas nativas de Huanuco (a) Desarrollo de las radículas durante el proceso de germinación inoculada con la cepa 52b de *Pseudomonas* (b).

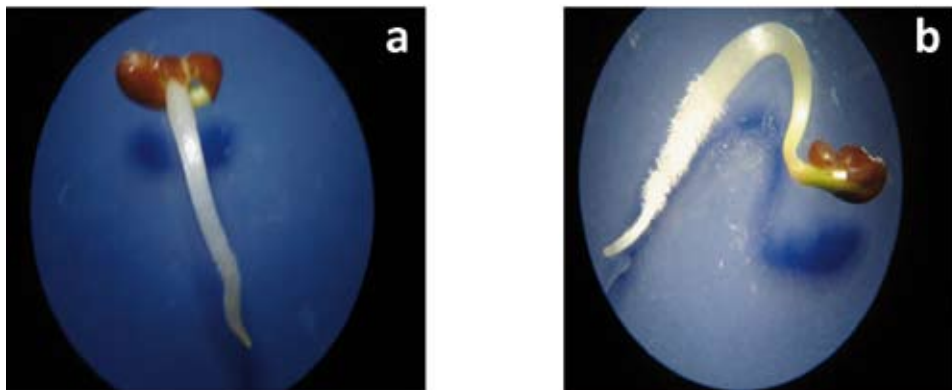


Figura 2. Germinación de semillas de alfalfa. Desarrollo de los pelos radiculares de una semilla sin inocular (a) e inoculada con una bacterias nativa aislada de Huanuco (b).

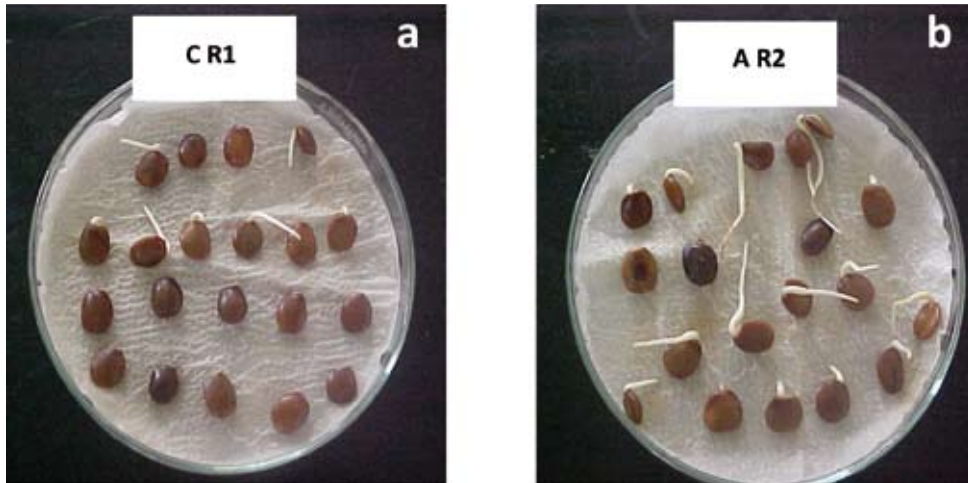


Figura 3. Germinación y desarrollo radicular de semillas de tara. Semillas no inoculadas (a) e inoculadas con bacterias nativas de Huanuco (b).