

CAPACIDAD DEL *Rhizobium* DE PROMOVER EL CRECIMIENTO EN PLANTAS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Miller)

PGPR CAPACITY OF *Rhizobium* ON *Lycopersicon esculentum* Miller. (TOMATO)

Nery Santillana¹, Consuelo Arellano² y Doris Zúñiga³

Resumen

El presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de 19 cepas de *Rhizobium* en la germinación y en el crecimiento de plantas de *Lycopersicon esculentum*. El efecto de los rizobios sobre la germinación de las semillas se determinó inoculando las semillas con suspensiones densas de rizobio y dejándolas germinar en arena esterilizada. El efecto sobre el crecimiento del cultivo se estudió en condiciones de cámara de crecimiento, utilizando suelo franco arenoso, con pH 7.3. El diseño utilizado fue completamente al azar con 21 tratamientos (19 cepas, un control sin inocular y un control con fertilización química) y cuatro repeticiones. Las cepas PEVF02, PEVF03, PEVF05, PEVF08, PEVF09, PEVF10, PEPSM12, PEPSM15 y PEPSM17 estimularon la germinación de las semillas de tomate, mientras que las cepas PEVF01, PEVF02, PEVF03, PEVF04, PEVF05, PEVF08 y PEPSM14 promovieron el crecimiento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). Las cepas PEVF02 y PEVF08 tuvieron un efecto significativo positivo en la germinación y en el crecimiento de las plantas de tomate, por lo cual podrían recomendarse como potenciales PGPR en este cultivo, como alternativa para reducir el uso de fertilizantes químicos.

Palabras claves: *Rhizobium*, rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas (PGPR), *Lycopersicon esculentum*.

Abstrac

The aim of the present study was to evaluate the effect of 19 *Rhizobium* strains on seed germination and growth of *Lycopersicon esculentum* plants. The effect of *Rhizobium* on germination was determined by inoculating the seeds with dense suspensions of *Rhizobium* and germinating them in sterilized sand. The effect of *Rhizobium* on tomato plants was studied in growth chamber conditions using a sandy loam soil, with pH 7.3. A completely random design was used with 21 treatments (19 strains, a control without inoculating nor chemical fertilization and a control with only chemical fertilization) and four repetitions. Strains PEVF02, PEVF03, PEVF05, PEVF08, PEVF09, PEVF10, PEPSM12, PEPSM15 and PEPSM17 stimulated the germination of tomato seeds, whereas strains PEVF01, PEVF02, PEVF03, PEVF04, PEVF08 and PEPSM14 promoted the growth of tomato plants (*Lycopersicon esculentum*). Strains PEVF02 and PEVF08 had a significant positive effect on germination and growth of tomato plants; thus these strains could be recommended as potential PGPR for this crop, as an alternative for reducing the use of chemical fertilizers.

Key words: *Rhizobium*, plant growth promoting rhizobacterias (PGPR), *Lycopersicon esculentum*.

Introducción

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 el crecimiento de plantas. Este grupo de bacterias llamadas rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPR) incluye el género *Rhizobium* (Sessitsch *et al.*, 2002). Estas bacterias se caracterizan por su habilidad de facilitar directa o indirectamente el desarrollo de la raíz y del follaje de las plantas. La estimulación indirecta del crecimiento de plantas incluye una variedad de mecanismos por los cuales la bacteria inhibe la acción fúngica sobre el crecimiento y desarrollo de la planta (Hassan *et al.*, 1997; Essalmani & Lahlou, 2003). La estimulación directa

puede incluir la fijación de nitrógeno (Sessitsch *et al.*, 2002), la producción de hormonas (Perrine *et al.*, 2004), de enzimas (Mayak *et al.*, 2004) de sideróforos (van Rossum *et al.*, 1994; Carson *et al.*, 2000) y solubilización de fosfatos (Rodríguez & Fraga, 1999). La capacidad PGPR de *Rhizobium* ha sido estudiada por varias décadas (Chakravarty & Purkayastha, 1984; Chabot *et al.*, 1996; Hassan *et al.*, 1997; Rodríguez & Fraga, 1999), sin embargo, en los últimos años este estudio ha sido intensificado (Yanni *et al.*, 2001; Essalmani & Lahlou, 2003; Dey *et al.*, 2004; Mhadhbi *et al.*, 2004; Perrine *et al.*, 2004) 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 leguminosas. En tal sentido se realizó el presente estudio con el objetivo de evaluar el efecto de 19 cepas de *Rhizobium* en la germinación y en el crecimiento de plantas de *Lycopersicon esculentum* en condiciones de invernadero.

Materiales y métodos

Microorganismos

Se utilizaron 19 cepas de *Rhizobium*, aisladas previamente de diferentes lugares y plantas hospederas tales como haba (*Vicia faba*) y holantao (*Pisum sativum* macrocarpum) (Tabla 1).

Tabla 1. Origen, planta hospedera y colección de procedencia de cepas de *Rhizobium*.

Código Cepas	Origen	Altitud (msnm)	Planta Hospedera	Colección
PEVF01	Huancavelica	3.500	<i>Vicia faba</i>	UNSCH-Ayacucho(1)
PEVF02	Huancavelica	3.500	<i>Vicia faba</i>	UNSCH-Ayacucho
PEVF03	Huancavelica	3.500	<i>Vicia faba</i>	UNSCH-Ayacucho
PEVF04	Huancavelica	3.500	<i>Vicia faba</i>	UNSCH-Ayacucho
PEVF05	Huancavelica	3.500	<i>Vicia faba</i>	UNSCH-Ayacucho
PEVF06	Huancavelica	3.500	<i>Vicia faba</i>	UNSCH-Ayacucho
PEVF07	Argentina	200	<i>Pisum sativum</i>	Argentina
PEVF08	Ayacucho	2.750	<i>Vicia faba</i>	UNSCH-Ayacucho
PEVF09	Ayacucho	2.750	<i>Vicia faba</i>	UNSCH-Ayacucho
PEVF10	Ayacucho	2.750	<i>Vicia faba</i>	UNSCH-Ayacucho
PEVF11	Ayacucho	2.750	<i>Vicia faba</i>	UNSCH-Ayacucho
PEPSM12	Lima (Cañete)	39	<i>Pisum sativum macrocarpum</i>	LEMYB Marino Tabusso (2)
PEPSM13	Lima (Cañete)	39	<i>Pisum sativum macrocarpum</i>	LEMYB Marino Tabusso
PEPSM14	Lima (Cañete)	39	<i>Pisum sativum macrocarpum</i>	LEMYB Marino Tabusso
PEPSM15	Lima (Cañete)	39	<i>Pisum sativum macrocarpum</i>	LEMYB Marino Tabusso
PEPSM16	Lima (Cañete)	39	<i>Pisum sativum macrocarpum</i>	LEMYB Marino Tabusso
PEPSM17	Lima (Nuevo Imperial)	252	<i>Pisum sativum macrocarpum</i>	LEMYB Marino Tabusso
PEPSM18	Lima (Nuevo Imperial)	252	<i>Pisum sativum macrocarpum</i>	LEMYB Marino Tabusso
PEPSM19	Lima (Nuevo Imperial)	252	<i>Pisum sativum macrocarpum</i>	LEMYB Marino Tabusso

(1) Laboratorio de Rizobiología, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho – Perú.

(2) Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología Marino Tabusso. Dpto. de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina (Tesis doctoral Nery Santillana)

Efecto de *Rhizobium* sobre la germinación de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*)

Se emplearon semillas de tomate de la variedad Río Grande, desinfectadas e inoculadas con suspensiones densas (concentraciones de 10^8 ufc.mL⁻¹

¹) de cada una de las 19 cepas de *Rhizobium* a evaluarse. Para el tratamiento control, las semillas fueron sumergidas en agua destilada esterilizada. Todas las semillas fueron colocadas en recipientes que contenían arena esterilizada y humedecida. Se consideró 2 repeticiones por tratamiento.

A los 10 días, se determinó el porcentaje de germinación. Los resultados fueron analizados mediante la tabla de análisis de variancia y la prueba de rangos múltiple de Duncan (P=0.05) para comparaciones entre promedios de tratamientos.

Efecto de *Rhizobium* sobre el crecimiento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*)

El experimento se realizó en condiciones de cámara de crecimiento, utilizando suelo procedente del campus de la Universidad Nacional Agraria La Molina, cuyo análisis se indican en la Tabla 2.

Tabla 2. Caracterización de suelo del Campus Universitario de la UNALM.

Análisis	Resultados	Método
pH	7.3	Suelo: Agua relación 1:1
Materia Orgánica %	1.5	Walkley y Black
Fósforo (ppm)	49.5	Método del Olsen modificado
Potasio (ppm)	242	Extracción con acetato de amonio
Clase Textural	Franco arenoso	Método del hidrómetro

El suelo fue colocado en vasos de 300 g de capacidad. Las semillas, desinfectadas previamente, fueron inoculadas con suspensiones densas de las cepas de *Rhizobium* a evaluarse (concentraciones celulares a nivel de 10^8 ufc.mL⁻¹). Las semillas control (no inoculadas) fueron tratadas con agua destilada esterilizada.

El diseño utilizado fue completamente al azar con 21 tratamientos (19 cepas, un control sin inocular y sin fertilización química y un control con solo fertilización química (60-60-60 Unidades de NPK) y cuatro repeticiones.

Al inicio de floración, se procedió a la evaluación de la altura de la planta, el peso de la materia seca de la parte aérea, el peso de la materia seca de la raíz, peso de la materia seca total de la planta y el índice de efectividad de la inoculación (IEI) expresado en porcentaje (Davies *et al*, 2005), calculado mediante la siguiente expresión,

$$IEI = \left[\frac{\text{Trat Inoculación} - \text{Control Sin Inoculación}}{\text{Control Sin Inoculación}} \right] \times 100$$

Se realizaron el análisis de variancia y la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P=0.05) para determinar las diferencias entre tratamientos.

Los promedios para las tres variables agronómicas (altura, materia seca de la parte aérea y materia seca de la raíz) se ordenaron de mayor a menor y el

promedio de estos órdenes se utilizó para establecer el valor de orden global (ranking) de los tratamientos estudiados.

Resultados

Efecto de *Rhizobium* sobre la germinación de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*)

Se observaron diferencias significativas entre cepas y el control (Tabla 3). Las semillas inoculadas con las cepas PEVF02, PEVF03, PEVF05, PEVF08, PEVF09, PEVF10, PEPSM12, PEPSM15 y PEPSM17 presentaron 100% de germinación, superando significativamente al control que presentó 80% de germinación. El resto de cepas no fueron estadísticamente diferentes frente al control. Los resultados obtenidos muestran el efecto positivo de la aplicación de las cepas de *Rhizobium* a las semillas de tomate.

Tabla 3. Porcentaje de germinación de semillas de *Lycopersicon esculentum* var. Río Grande inoculadas con cepas de *Rhizobium*.

Cepas	% Germinación semillas ¹	Cepas	% Germinación semillas ¹
PEVF01	90 a b	PEPSM12	100 a
PEVF02	100 a	PEPSM13	90 a b
PEVF03	100 a	PEPSM14	90 b c
PEVF04	60 d	PEPSM15	100 a
PEVF05	100 a	PEPSM16	90 b c
PEVF06	80 b c d	PEPSM17	100 a
PEVF07	80 b c d	PEPSM18	70 c d
PEVF08	100 a	PEPSM19	70 b c
PEVF09	100 a		
PEVF10	100 a		
PEVF11	70 c d		
Control	80 b c d		

¹datos transformados a arcoseno de la proporción (porcentaje/100) de germinación antes de análisis. Tratamientos seguidos por la misma letra no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P=0.05)

Efecto de *Rhizobium* sobre el crecimiento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*)

La variable altura de planta no presentó diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 4), mientras que la materia seca de la parte aérea y materia seca total sí presentaron diferencias entre tratamientos. Se observó que el tratamiento con fertilización química y con las cepas PEVF01, PEVF02 y PEVF08 superaron significativamente al control sin inocular, el tratamiento con fertilización química incrementó la materia seca de la parte aérea en 88% y la materia seca

total en 81% respecto al control. Las plantas tratadas con las cepas incrementaron la materia seca de la parte aérea entre 56 y 58% y la materia seca total entre 64 y 70% respecto al control (Figura 1).

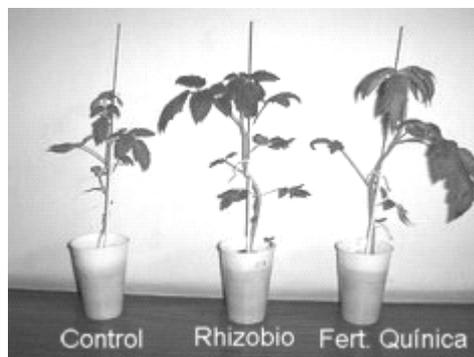


Figura 1. Efecto de rizobios en el crecimiento de *Lycopersicon esculentum*.

La materia seca de la raíz muestra diferencias significativas entre las plantas inoculadas con las cepas PEVF01 y PEVF08 frente al control sin inocular, con incrementos de 159%, sin embargo, se observó que las cepas PEVF02, PEVF03, PEVF04, PEPSM12 y PEPSM19 presentaron incrementos entre 49 a 124% de la materia seca radicular frente al control sin inocular aunque sin diferencias significativas.

Discusión

En la actualidad, la agricultura sustentable, plantea mejorar la eficiencia de la fijación del nitrógeno mediante el uso de plantas leguminosas y rizobios competitivos, capaces de ser usados en biorremediación y fitorremediación y de esta manera extender las ventajas de la simbiosis a otros cultivos; en tal sentido, las investigaciones se han orientado al estudio del rizobios como promotor del crecimiento de plantas leguminosas y no leguminosas, proceso conocido como capacidad PGPR.

Previamente se demostró que algunas de las cepas de *Rhizobium* utilizadas en este estudio mejoraron el rendimiento del cultivo de haba (*P. sativum*) a nivel de campo (Nuñez *et al.*, 2005). En el presente trabajo, se verifica que ciertas cepas de *Rhizobium*, pueden estimular la germinación de semillas de tomate y promover su crecimiento.

El 47% de las cepas de rizobios (cepas PEVF02, PEVF03, PEVF05, PEVF08, PEVF09, PEVF10, PEPSM12, PEPSM15 y PEPSM17) presentaron efecto estimulante sobre las semillas de tomate, resultando en una mejor germinación, posiblemente debido a la habilidad de los rizobios para producir hormonas como el ácido indol acético, ácido giberélico y citoquininas, sustancias reguladoras del crecimiento de las plantas (Dey *et al.*, 2004; Yanni *et al.*, 2001). Perrine *et al.* (2004) encontraron cepas de *Rhizobium*

productoras de altas concentraciones de ácido indol acético que estimularon el crecimiento de semillas de arroz. Indican que su efecto es similar al ácido indol acético exógeno.

nitrógeno (Wang *et al.*, 2002). Antoun *et al.* (1998), reportaron algunas evidencias directas de la colonización de raíces y la actividad PGPR de rizobios con no leguminosas.

Tabla 4. Altura, materia seca de parte aérea, materia seca de raíz, materia seca total e índice de efectividad de la inoculación de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) con cepas de *Rhizobium*.

Cepas	Altura (cm)	Materia seca parte aérea ¹		Materia seca raíz ¹		Materia seca total ¹ (mg/maceta a)		Orden	
		IEI %	IEI (mg/maceta)	IEI %	IEI (mg/maceta)	IEI %	IEI %		
PEVF01	41	-	492.5 ab	56	110.0 a	159	602.5 ab	69	5
PEVF02	42.7	-	492.5 ab	56	95.0 ab	124	587.5 a-c	64	4
PEVF03	43.5	-	372.5 b-e	18	75.0 a-c	76	447.5 b-e	25	6
PEVF04	43.7	-	427.5 bc	36	70.0 a-c	65	497.5 a-d	39	3
PEVF05	44.5	-	365.0 b-e	16	57.5 a-c	35	422.5 c-e	18	7
PEVF06	43.2	-	340.0 c-e	8	60.0 a-c	41	400.0 de	12	11
PEVF07	43.5	-	347.5 c-e	10	60.0 a-c	41	407.5 de	14	10
PEVF08	44.7	-	497.5 ab	58	110.0 a	159	607.5 ab	70	1
PEVF09	44.5	-	302.5 c-e	-	57.5 a-c	35	360.0 de	1	12.5
PEVF10	44.2	-	347.5 c-e	10	57.5 a-c	35	405.0 de	13	9
PEVF11	39.7	-	307.5 c-e	-	55.0 bc	29	362.5 de	1	20
PEPSM12	42.2	-	272.5 de	-	63.30 a-c	49	327.5 de	-	17.5
PEPSM13	43	-	322.5 c-e	2	55.0 bc	29	377.5 de	6	15
PEPSM14	46	2	407.5 b-d	29	50.0 bc	18	457.5 b-e	28	8
PEPSM15	44.2	-	265.0 de	-	22.5 c	-	287.5 e	-	19
PEPSM16	40.2	-	257.5 e	-	50.0 bc	18	307.5 e	-	21
PEPSM17	46.5	3	307.5 c-e	-	50.0 bc	18	357.5 de	-	12.5
PEPSM18	44.2	-	312.5 c-e	-	37.5 c	-	350.0 de	-	17.5
PEPSM19	40.5	-	290.0 c-e	-	70.0 a-c	65	360.0 de	-	16
Control	45.2	-	315.0 c-e	-	42.5 bc	-	357.5 de	-	14
Fert.Quím.	47.5	5	592.5 a	88	55.0 bc	29	647.5 a	81	2

¹ En cada columna, promedios de tratamientos seguidos por la misma letra no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P=0.05).

El 37 % de las cepas de *Rhizobium* evaluadas (cepas PEVF01, PEVF02, PEVF03, PEVF04, PEVF05, PEVF08 y PEPSM14) estimularon el crecimiento de las plantas de tomate. Al respecto numerosos estudios han demostrado el uso del rizobio como bacterias fijadoras del N₂ y como promotoras del crecimiento de plantas no leguminosas. Por ejemplo *R. leguminosarum* bv *trifolii* y cepas de *Bradyrhizobium* se han encontrado en raíces de arroz y *R. etli* en raíces de maíz. Los rizobios pueden también introducirse y colonizar otras plantas, tal como sucede con *Azorhizobium caulinodans* en las raíces de la oleaginosa *Brassica napus*. Estas 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

Se observó también, mayores incrementos de la materia seca de la raíz con relación a la materia seca de la parte aérea, incrementos que superaron a la fertilización química. Dichos resultados concuerdan con autores como Mayak *et al.* (2004) quienes hacen mención sobre la habilidad de las cepas de rizobio para producir 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 las raíces. Mientras que Chabot *et al.* (1996), Yanni *et al.* (2001) y Perrine, *et al.* (2004) entre otros, sostienen que las moléculas promotoras del crecimiento como el ácido indol acético, las giberelinas y las citoquininas producidas por los rizobios, presentes ya sea en la rizósfera o en los tejidos de las plantas estimulan el mayor desarrollo de la raíz y realizan la capacidad de absorción de nutrientes de la raíz en beneficio de la planta no leguminosa. Gutiérrez & Martínez (2001) encontraron incrementos de 42% de la materia seca de la parte aérea

y de 49% de la materia seca de raíz en plantas de maíz inoculadas con *R. etli*. Dichos autores mencionan que el efecto benéfico de *R. etli* en plantas de maíz puede deberse a los mecanismos descritos anteriormente.

Las cepas PEVF02 y PEVF08 tuvieron un efecto positivo significativo en la germinación y en el crecimiento de las plantas de tomate, por lo cual podrían recomendarse como potenciales PGPR en este cultivo como alternativa para reducir el uso de fertilizantes químicos.

Conclusiones

1. Nueve cepas de rizobios (PEVF02, PEVF03, PEVF05, PEVF08, PEVF09, PEVF10, PEPSM12, PEPSM15 y PEPSM17) estimularon la

- germinación de las semillas de *Lycopersicon esculentum*.
2. Siete cepas de rizobios (PEVF01, PEVF02, PEVF03, PEVF04, PEVF05, PEVF08 y PEPSM14) promovieron el crecimiento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*).
 3. Las cepas PEVF02 y PEVF08 estimularon significativamente la germinación de semillas y promovieron el crecimiento de plantas de *Lycopersicon esculentum*.
- Literatura citada**
- Antoun H. Beauchamp Ch. & Goussard N. 1998. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non legumes. Effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). Plant and Soil. 204: 57-67
- Carson K., Meyer J.M. & Dilworth M. 2000. Hydroxamate siderophores of root nodule bacteria. Soil Biology & Biochemistry. 32: 11-21.
- Chabot R., Antoun H., Kloepper J.W. & Beauchamp C.J. 1996. Root colonization of maize and lettuce by bioluminescent *Rhizobium leguminosarum* biovar. phaseoli. Appl. Environ. Microbiol. 62: 2767-2772.
- Chakravarty U. & Purkayastha R.P. 1984. Role of Rhizobitoxine in protecting soybean roots from *Macrophomina phaseolina* infection. Can. J. Microbiol. 30: 285-289.
- Davies F.T., Calderón C.M. & Huamán Z. 2005. Influence of Arbuscular Mycorrhizae Indigenous to Peru and a Flavonoid on Growth, Yield and Leaf Elemental Concentration of “Yungay” Potatoes. Hort Science. 40(2): 381-385
- Dey R., Pal K., Bhatt D.M. & Chauhan S.M. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Microbiological Research. 159: 371-394.
- Essalmani H. & Lahlou H. 2003. Mécanismes de bioprotection des plantes de lentille par *Rhizobium leguminosarum* contre *Fusarium oxysporum* sp. Lentis. C.R. Biologies. 326 : 1163-1173.
- Gutierrez A. & Martinez E. 2001. Natural endophytic association between *Rhizobium etli* and maize (*Zea mays* L.). Journal of Biotechnology. 91: 117-126.
- Hassan Dar G., Zargar M.Y. & Beigh G.M. 1997. Biocontrol of *Fusarium* Root Rot in the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by using Symbiotic *Glomus mosseae* and *Rhizobium leguminosarum*. Microb. Ecol. 34: 74-80
- Mayak S., Tirosh T. & Glick B. 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. Plant Physiology and Biochemistry. 42: 565-572.
- Mhadhbi H., Jebara M., Limam F. & Elarbi Aouani M. 2004. 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. 42: 717-722.
- Núñez, M., Santillana, N. & Zúñiga Dávila, D. 2005. Evaluación de cuatro cepas de *Rhizobium* en *Vicia faba* L. var. Rojo Mantaro en condiciones de campo. Naturaleza y Desarrollo. 3(2): En prensa.
- Perrine F., Rolfe B., Hynes M. & Hocart C. 2004. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of indolacetic acid and tryptophan following aqueous chloroformate derivatisation of *Rhizobium* exudates. Plant Physiology and Biochemistry. 42: 723-729.
- Rodríguez H. & Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances. 17: 319-339.
- Sessitsch J., Howieson X., Perret H., Antoun H. & Martinez-Romero E. 2002. Advances in *Rhizobium* Research. Critical Reviews in Plant Sciences. 21, Issue 4, 1 : 323-378.
- van Rossum D., Muyotcha A., van Verseveld H.W., Stouthamer A.H. & Boogerd F. 1994. Siderophore production by *Bradyrhizobium* spp. strains nodulating groundnut. Plant and Soil. 163: 177-187.
- Wang T., Martinez J. & López I. 2002. *Rhizobium* y su simbiosis con plantas. Monografía. Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Yanni Y., Rizk R., Fattah F.K. & Squartine A. 2001. The beneficial plant growth-promoting association of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* with rice root. Australian Journal of Plant Physiology. 28: 845-870.

¹Laboratorio de Rhizobiología. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho. nerysantillana@yahoo.es

²Dpto de Biología. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. carellano@lamolina.edu.pe

³Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. dzuniga@lamolina.edu.pe