

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS PGPR  
*Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* EN EL CULTIVO DE LA QUINUA  
(*Chenopodium quinoa Willd.*)**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. TANIA PILAR NINA LARICO**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PUNO – PERÚ**

**2019**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**EFFECTO DE INOCULACIÓN DE BACTERIAS PGPR *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* EN EL CULTIVO DE LA QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.).**

TESIS




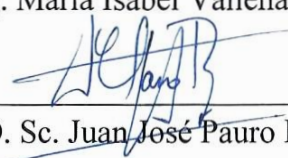
PRESENTADA POR:

Bach. TANIA PILAR NINA LARICO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADA POR EL JURADO REVISOR:

<b>PRESIDENTE</b>	:	 <hr/> Blgo. M. Sc. Eva Laura Chauca de Meza
<b>PRIMER MIEMBRO</b>	:	 <hr/> M. Sc. Vicky Cristina Gonzales Alcos
<b>SEGUNDO MIEMBRO</b>	:	 <hr/> Mg. María Isabel Vallenias Gaona
<b>DIRECTOR / ASESOR</b>	:	 <hr/> D. Sc. Juan José Pauro Roque

**Área** : Ciencias Biomédicas  
**Tema** : Biotecnología Microbiana

Fecha de sustentación: 18/10/2019

## DEDICATORIA

*Dedico a Dios principalmente por haberme dado salud y vida para lograr mis objetivos, de cada día y por estar siempre omnipresente conmigo cuidándome y protegiéndome.*

*Con un vasto amor a mi madre Marlene, padre, hermano Jhon y Lizeth por todo su apoyo, abnegación, sacrificio, paciencia, constante lucha y por darme siempre todo su amor incondicional, siendo el motor y el pilar fundamental en todo el trayecto de mi vida.*

*Con especial cariño a mis abuelos Cecilia, Juan, Catalina y Sabino, por brindar todo el amor incondicional a sus nietos. A mis tíos (as), primos (as) por ser parte de mi vida.*

*A mis docentes de la universidad por sus enseñanzas, dedicación y esmero en mi formación profesional, por ser una fuente de motivación e inspiración.*

**TANIA PILAR NINA LARICO**

## AGRADECIMIENTOS

La finalización de esta tesis no hubiese sido posible sin la cooperación desinteresada de todas y cada una de las personas que a continuación citare, siendo muchas el apoyo y soporte en momentos difíciles durante el desarrollo de la tesis.

- ✓ A Dios por haberme permitido llegar a este momento, exento de enfermedad y con deslumbrante salud.
- ✓ A la Universidad Nacional del Altiplano y a la Facultad de Ciencias Biológicas, por recibirme en sus aulas y contribuir en mi formación profesional.
- ✓ A los docentes de la Escuela Profesional de Biología por sus conocimientos impartidos durante mi formación académica.
- ✓ Con gratitud al Dr. Juan José Pauro Roque, Director de la tesis, por su motivación, apoyo intelectual y paciencia que hizo posible la culminación de este trabajo.
- ✓ A los miembros del jurado: M.Sc. Eva Laura Chauca de Meza, M. Sc. Vicky Cristina Gonzales Alcos y Mg. María Isabel Vallenias Gaona por el apoyo y sugerencias para el enriquecimiento de este trabajo durante la corrección y dictamen del borrador de tesis.
- ✓ Mi especial agradecimiento al sr. Leonidas, Gregorio, Jacinto por su apoyo, consejos, sugerencias y orientación incondicional, en el desarrollo del trabajo de investigación.
- ✓ Agradezco al Dr. Ángel Mujica y al Mg. Hilver de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la UNA-Puno y de la Universidad Nacional Agraria la Molina respectivamente, por facilitarme las muestras de quinua y asesoramiento para esta investigación.
- ✓ A mis amigos Fredy por el apoyo técnico, Nohemí, Mariluz, Luzmi, Javi, quienes me ayudaron en la realización de este trabajo.
- ✓ A todas las personas que contribuyeron en alguna manera, me brindaron ideas y consejos para que se culmine mi proyecto de investigación.

**ÍNDICE GENERAL**

ÍNDICE GENERAL .....	
ÍNDICE DE FIGURAS .....	
ÍNDICE DE TABLAS .....	
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	
RESUMEN .....	13
I. INTRODUCCIÓN.....	15
1.1    OBJETIVO GENERAL .....	16
1.2    OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
II.    REVISIÓN DE LITERATURA .....	17
2.1.    Antecedentes.....	17
2.2.    Marco teórico.....	20
III.   MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
3.1.  Zona de estudio .....	32
3.2.  Tipo de Investigación.....	32
3.3.  Método .....	33
IV.  RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	40

V. CONCLUSIONES .....	74
VI. RECOMENDACIONES .....	75
VII. REFERENCIAS .....	76
Anexos .....	82

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> El metabolismo de la glucosa y fructosa descubiertas en <i>Pseudomonas saccharophila</i> . .....	25
<b>Figura 2.</b> Fases fenológicas de la quinua ( <i>Chenopodium quinoa</i> Willd). .....	27
<b>Figura 3.</b> Mecanismo de control biológico de la patógenos de las plantas. ....	29
<b>Figura 4.</b> Biocontrol de patógenos por PGPR. ....	29
<b>Figura 5.</b> CIP Camacani de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno.....	32
<b>Figura 6.</b> Cepas PQLMT 18 y Dz50 en el medio LMA (Levadura Manitol Agar).....	33
<b>Figura 7.</b> Cultivo en medio líquido de <i>Pseudomonas sp.</i> y <i>Rhizobium sp.</i> ....	34
<b>Figura 8.</b> Preparación de diluciones seriadas $10^{-1}$ a $10^{-9}$ de <i>Pseudomonas sp.</i> y <i>Rhizobium sp.</i> y recuento de colonias.....	35
<b>Figura 9.</b> Inoculación de semillas con las cepas de <i>Pseudomonas sp.</i> y <i>Rhizobium sp.</i> ...	35
<b>Figura 10.</b> Germinación <i>in vitro</i> de semillas de quinua, inoculadas con <i>Pseudomonas sp.</i> y <i>Rhizobium sp.</i> y semillas sin inóculo. FCCBB- 02/11/17.	36
<b>Figura 11.</b> Siembra de semillas inoculadas en maceta a a nivel de campo abierto, en el CIP Camacani de la UNA – Puno.04/11/17 .....	37
<b>Figura 12.</b> Reinoculación con las cepas de <i>Pseudomonas sp.</i> y <i>Rhizobium sp.</i> y de forma asociada en la planta de la quinua. CIP- Camacani. 29/12/2017. ....	38

<b>Figura 13.</b> Solubilización de fosfato tricálcico por las cepas DZ50 ( <i>Rhizobium sp.</i> ) y PQLMT18 ( <i>Pseudomonas sp.</i> )_ .....	38
<b>Figura 14.</b> Comparación de porcentaje de germinación <i>in vitro</i> , realizado en el Laboratorio de microbiología de la FCCBB, 04/11/17. ....	41
<b>Figura 15.</b> Comparación de porcentaje de emergencia a nivel de campo, CIP Camacani de la UNA- Puno – 12/11/17. ....	46
<b>Figura 16.</b> Comparación de longitud de tallo de la quinua (cm) a los 50 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/12/17. ....	50
<b>Figura 17.</b> Comparación de longitud de tallo de la quinua (cm) a los 108 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 14/02/18. ....	52
<b>Figura 18.</b> Comparación de longitud de tallo a los 176, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/04/18.....	54
<b>Figura 19.</b> Comparación de peso fresco aéreo (g) a los 50 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/12/17.....	57
<b>Figura 20.</b> Comparación de peso fresco (g) de la quinua en la fase, CIP Camacani de la UNA- Puno – 14/02/18. ....	60
<b>Figura 21.</b> Comparación de peso fresco (g) aéreo a los 176 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/04/18.....	62
<b>Figura 22.</b> Comparación de peso seco (g) a los 50 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/12/17.....	65



<b>Figura 23.</b> Comparación peso seco (g) aéreo a los 108 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 14/02/18.....	68
<b>Figura 24.</b> Comparación de peso seco (g) aéreo de la quinua a los 176 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/04/18. ....	70
<b>Figura 25.</b> Comparación de peso seco (g) de semilla de la quinua, CIP Camacani de la UNA- Puno –23/04/18 .....	72
<b>Figura 26.</b> Evaluación del porcentaje de germinación <i>in vitro</i> realizado en el laboratorio de Microbiología de la UNAP- FCCBB. ....	82
<b>Figura 27.</b> Evaluación del porcentaje de emergencia de las semillas de quinua inoculadas, a nivel de abierto en maceta. ....	82
<b>Figura 28.</b> Medición de la longitud del tallo (cm) de la quinua a los 50, 108 y 176 días después de la siembra. ....	82
<b>Figura 29.</b> Evaluación del peso fresco de la quinua a los 50, 108 y 176 días después de la siembra. ....	83
<b>Figura 30.</b> Evaluación del peso seco de la quinua en los diferentes estadios fenológicos programados.....	83
<b>Figura 31.</b> Evaluación del peso seco de la semilla de la quinua al final del cultivo. ....	83

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, efectos y cultivos donde se han evaluado. ....	22
<b>Tabla 2.</b> Patógenos de plantas controlados por <i>Pseudomonas spp.</i> y el modo de acción involucrado en el biocontrol. ....	30
<b>Tabla 3.</b> Tratamientos para ensayos de laboratorio y a nivel de campo. ....	36
<b>Tabla 4.</b> Porcentaje de germinación <i>in vitro</i> de semillas de quinua inoculadas (%) en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB, 02/11/17. ....	40
<b>Tabla 5.</b> Porcentaje de emergencia en maceta a nivel de campo libre a los 9 días después de la siembra, CIP Camacani de la UNA- Puno – 12/11/17. ....	45
<b>Tabla 6.</b> Media longitudinal del tallo a los 50 días después de la siembra, CIP Camacani de la UNA – Puno - 23/12/17. ....	48
<b>Tabla 7.</b> Promedio de longitud de tallo de la quinua (cm) a los 108 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 14/02/18. ....	51
<b>Tabla 8.</b> Longitud de tallo de la quinua (cm) a los 176 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/04/18. ....	53
<b>Tabla 9.</b> Peso fresco aéreo (g) de la quinua a los 50 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/12/17. ....	56
<b>Tabla 10.</b> Peso fresco aéreo (g) de la quinua a los 108 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 14/02/18. ....	59

<b>Tabla 11.</b> Peso fresco aéreo (g) de la quinua a los 176 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/04/18. ....	61
<b>Tabla 12.</b> Peso seco aéreo (g) de la quinua a los 50 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/12/17. ....	64
<b>Tabla 13.</b> Peso seco aéreo (g) de la quinua a los 108 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 14/02/18. ....	67
<b>Tabla 14.</b> Peso seco aéreo (g) de la quinua a los 176 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/04/18. ....	69
<b>Tabla 15.</b> Peso seco (g) de la semilla de la quinua, CIP Camacani de la UNA- Puno –23/04/18. ....	71

## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

**LMA:** Agar Levadura Manitol

**LMC:** caldo levadura manitol

**AA:** Agar agua

**AN:** Agar Nutritivo

**ANOVA:** Analysis Of Variance

**PGPR:** Plant Growth Promoting Rhizobacteria

**°C:** Grados centígrados

**cm:** centímetro

**%:** porcentaje

**g :** gramos

**PF :** Peso fresco (g)

**FCCBB:** Facultad de Ciencias Biológicas

**PS:** Peso Seco (g)

**PSS:** Peso seco de la semilla (g)

**C (18):** Cepa PQLMT 18 *Pseudomonas sp.*

**C (DZ50):** Cepa de *Rizhobium sp.*

**C (18 + CDZ50):** Semillas inoculadas con *Pseudomona sp.* y *Rizhobium sp.*

**Sp.:** Especie

## RESUMEN

La investigación se realizó entre noviembre del 2017 a marzo del 2018 en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas como también en el CIP Camacani de la UNA - Puno. **Los objetivos** fueron: Determinar la diferencia porcentual de germinación *in vitro* de semillas de quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* (cepa PQLMT18). y *Rhizobium sp.* (cepa DZ50), en forma individual y asociada; evaluar el efecto de la inoculación con estas cepas sobre el porcentaje de emergencia, peso fresco, peso seco y longitud de tallo de la quinua. **Lo métodos** fueron inoculación microbiana *in vitro* con una población de  $10^9$  UFC/ml sobre semilla de quinua, germinación *in vitro* en agar agua al 0.75%, y la evaluación de emergencia, crecimiento y características morfoproductivas de cultivo en maceta se realizó en condiciones de campo abierto en el CIP Camacani. El diseño estadístico que se utilizó fue Diseño Completo al Azar con 4 tratamientos con 6 repeticiones, consistente en semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), con *Rhizobium sp.* (T3), asociación de ambas cepas (T4) y un control negativo de semilla sin inóculo bacteriano (T1); para el contraste de medias, se realizó la prueba múltiple de Tukey al 0.05 de significancia. En cuanto a **Los resultados** de porcentaje de germinación fue mayor en el tratamiento T3 con 87% y menor en el control negativo con 84% no existiendo diferencias estadísticas; La emergencia fue mayor en el control negativo con 83.3% con el valor de F (0.62) con un grado de significancia ( $P > 0.05$ ) y menor en el tratamiento asociado (T4) no existiendo diferencias estadísticas; Al día de la cosecha, el mayor peso seco aéreo fue en el tratamiento T2 con 82.87 g y menor en el control negativo, no existiendo diferencias estadísticas; En cuanto al producto representado por el peso seco de semilla, el mejor tratamiento fue T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) con 37.51 g con un valor de F (13.34) y con un grado de significancia ( $P < 0.05$ ), y menor en el control negativo con 33.97 g existiendo diferencias estadísticas significativas. En **conclusión**, la inoculación de cepas promotoras de crecimiento favorece el desarrollo del producto en grano de quinua durante su cultivo, aun estando los microorganismos inoculados en competencia con el microbioma propio del ambiente y es una posible alternativa ecosostenible y potencial para uso en cultivo a campo abierto.

**Palabras Clave:** Biofertilizante, germinación *in vitro*, Inoculación, *Pseudomonas sp.*, *Rhizobium sp.*

### Abstract

The research was conducted between November 2017 to March 2018 at the Microbiology Laboratory of the Faculty of Biological Sciences as well as the CIP Camacani of the UNA - Puno. The objectives were: To determine the percentage difference of *in vitro* germination of quinoa seeds inoculated with *Pseudomonas* sp. (strain PQLMT18). and *Rhizobium* sp. (strain DZ50), individually and in association; evaluate the effect of inoculation with these strains on the emergency percentage, fresh weight, dry weight and quinoa stem length. The methods were *in vitro* microbial inoculation with a population of  $10^9$  CFU / ml on quinoa seed, *in vitro* germination in 0.75% water agar, and the emergency evaluation, growth and morphoproductive characteristics of potted culture was carried out under conditions Open field at CIP Camacani. The statistical design that was used was Complete Random Design with 4 treatments with 6 repetitions, consisting of seeds inoculated with *Pseudomonas* sp. (T2), with *Rhizobium* sp. (T3), association of both strains (T4) and a negative seed control without bacterial inoculum (T1); For the contrast of means, the Tukey multiple test was performed at 0.05 significance. Regarding the germination percentage results, it was higher in the T3 treatment with 87% and lower in the negative control with 84%, with no statistical differences; The emergency was greater in the negative control with 83.3% with the value of F (0.62) with a degree of significance ( $P > 0.05$ ) and lower in the associated treatment (T4) with no statistical differences; At the day of harvest, the highest aerial dry weight was in the T2 treatment with 82.87 g and less in the negative control, with no statistical differences; As for the product represented by the dry seed weight, the best treatment was T3 (seeds inoculated with *Rhizobium* sp.) With 37.51 g with a value of F (13.34) and with a degree of significance ( $P < 0.05$ ), and lower in the negative control with 33.97 g, there are significant statistical differences. In conclusion, the inoculation of growth promoting strains favors the development of the product in quinoa grain during its cultivation, even though the microorganisms are inoculated in competition with the microbiome of the environment and is a possible eco-sustainable and potential alternative for use in field cultivation open.

**Keywords:** Biofertilizer, *in vitro* germination, Inoculation, *Pseudomonas* sp., *Rhizobium* sp.

## I. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación se basa en observar el efecto de inoculación de *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* con características promotoras de crecimiento vegetal (PGP) en semillas de la quinua. Las bacterias PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) por sus siglas en inglés, en 1978 Kloepper define como organismos altamente eficientes para aumentar el crecimiento vegetal e incrementar su tolerancia a otros organismos patógenos y la aplicación de este tipo de microorganismos resultó promover evidencialmente el crecimiento en plantas, observando un resaltante incremento en la emergencia, biomasa, desarrollo en sistemas radiculares e incrementos de hasta 30% en la producción de cultivos de interés comercial como la quinua, trigo y soya, entre otros. Actualmente, el uso de microorganismos representa sólo 1.4% (380 millones de dólares) del mercado global para el control de plagas y enfermedades.

La problemática actual en el campo de la agricultura, es el uso de grandes cantidades de insumos químicos, anualmente se utilizan 100 millones de toneladas de fertilizantes nitrogenados y más de 90 millones de potasio y fósforo para obtener cultivos de calidad y generar mejores rendimientos, la cual produce altos costos de producción y trae consigo efectos colaterales negativos como la contaminación de suelos y aguas, estos han conducido a un proceso de deterioro de sus escasos recursos y una creciente dificultad para renovarlos, promoviendo un uso integral y diversificado de los recursos naturales en un ambiente fluctuante y restrictivo.

Es por ello que los agricultores buscan constantemente mejorar sus productos, incrementando constantemente la calidad de los mismos mediante técnicas de selección de semilla, aplicando nuevas técnicas de siembra, sin utilizar maquinarias evitando la introducción de insumos químicos, pesticidas, etc. Teniendo en cuenta que el uso de microorganismos como *Pseudomonas sp.* promueven el crecimiento de las gramíneas como la quinua y *Rhizobium sp.* promueve el crecimiento de leguminosas como el haba, es por ello que en la presente investigación se experimenta y se profundiza el estudio del uso de estos dos microorganismos PGPR para promover el crecimiento de la quinua en nuestra región.

De tal manera promover una agricultura orgánica, sostenible a la calidad del medio ambiente, la generación de ingresos y la seguridad alimentaria sin la necesidad de recurrir a insumos químicos para evitar plagas o acelerar el crecimiento y generar un producto de calidad.

Por todo lo expuesto se plantean los siguientes objetivos:

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la inoculación de bacterias PGPR *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* en el cultivo de la quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.).

### **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar la diferencia porcentual de germinación *in vitro* de semillas de quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, en forma individual y asociada.

Evaluar el efecto de la inoculación con *Pseudomonas sp.*, *Rhizobium sp.*, en forma individual y asociada, sobre el porcentaje de emergencia, peso fresco, peso seco, longitud de tallo y peso seco de la semilla del cultivo de quinua en macetas.



## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

La utilización de bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) es de gran realce como biofertilizantes y como controladores de fitopatógenos (Antoun & Prévost, 2005; Puente et al., 2015), las rizobacterias están en asociación con muchos tipos de plantas y en diversos ambientes como en el cultivo de la quinua (Glick & Glick, 2012; Liceta, 2015), las bacterias como *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (Lugtenberg & Kamilova, 2009), tienen la capacidad de promover el crecimiento vegetal tal como lo menciona Liceta (2015) que obtuvo un porcentaje de 90% a 100% de germinación *in vitro* con relación a la temperatura de 8 °C y un 95% a 100 % de germinación *in vitro* a una temperatura de 13 °C, utilizando a *Pseudomonas sp.* caso similar ocurre cuando inoculó con *Bacillus sp.* obteniendo un 90 % a 100% de Germinación *in vitro*, con las mismas temperaturas. Por otro lado, Goita (2014) en su investigación afirma que el uso de bacterias diazotróficas estimulan una rápida germinación *in vitro*, como tal es el caso de *Azotobacter sp.* inoculada a las semillas de quinua.

Así también, Mamani (2018) demostró que el género *Azotobacter* tiende a incrementar la germinación *in vitro* en semillas de quinua en un 83.33 % y 93.33 % de germinación *in vitro.*, por otro lado (Vergani & Zúñiga, 2018) afirma que las semillas de maca sin ser peletizadas obtuvo un mayor porcentaje de germinación *in vitro* a comparación de los que si estaban inoculadas con bacterias promotoras de crecimiento, como también Bécquer *et al* (2012) demostró en su estudio con la inoculación de *Sinorhizobium sp.* y *Azospirillum sp.* en semillas de trigo resultaron una alternativa significativa para las industrias agronómicas.

Por otro lado, Sanchez (2011) demostró el efecto de la inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* var. sofía) bajo invernadero en el cual se identificó a *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Bacillus sp.*, con la capacidad intrínseca para solubilizar una fuente de fósforo, donde la utilización de cepas las cepas de *Enterobacter sp* y *Pseudomonas sp.* evidenciaron los mejores resultados.

Por otro lado, Liceta (2015) reportó que a los 7 días se cosechó las plántulas de las placas y se midió el peso seco de las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y obtuvo un promedio

entre 0.0015 g y 0.002 g tanto como las semillas inoculadas con *Bacillus sp.*, y con respecto al porcentaje de emergencia a nivel de invernadero la longitud de la plántulas inoculadas con *Pseudomonas sp.* fueron entre (2.5 – 3) cm y a los 7 días las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* registraban una altura de 15 - 25 cm, y en cuanto a la peso fresco de la planta resaltó el tratamiento con *Pseudomonas sp.* en la var. Kancolla.

Así también Llanos (2017), demostró que el efecto de las bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSF) del género *Bacillus* obtuvieron una carga bacteriana solubilizadora de fosfato de  $2.40 \times 10^3$  UFC/g en la comunidad Sankuta,  $1,57 \times 10^3$  UFC/g en la comunidad Sarapi Arroyo y  $1,23 \times 10^3$  UFC/g en la comunidad Pharata, en la evaluación de los parámetros biométricos en la longitud de la planta, diámetro del tallo y peso seco de la planta y raíz. Por otro lado Goitia (2014) en su investigación afirma que los microorganismos diazotróficas en suelos de cultivo puro y humus de lombriz del distrito de Puno, obtuvo una población de bacterias diazotróficas superiores a  $110 \times 10^2$  y  $240 \times 10^2$  NMP/g de sustrato, los cuales influyeron marcadamente en el proceso de germinación y crecimiento vegetal. Así mismo influye en la longitud total de las plántulas de quinua obteniéndose valores promedios entre 4.67 cm y 10.33 cm presentando diferencia estadística significativa.

(Orozco & Martínez, 2009) afirma que las bacterias fijadoras de nitrógeno asimbióticas *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus macerans*, *Enterobacter agglomerans* y *Pseudomonas sp* inoculadas en *Pinus patula*, estimuló su crecimiento longitudinal de *P. patula*, el 29 % corresponde a *Pseudomonas sp.* Asu vez Ogata & Zúñiga (2005) en la rizósfera de la tara (*Caesalpinia spinosa*) inoculadas con *Azotobacter spp*, 8 de actinomicetos y 13 de *Pseudomonas spp.* No mostrarón un efecto positivo para estimular el crecimiento. Y así también da a conocer que la cepa de *Rhizobium* rP2N3 destacó por crecer tanto en pH ácido como alcalino, siendo además la única que creció a niveles de NaCl de hasta el 1% en comparación de las demás cepas que mostraron sensibilidad a esta sal.

Por otra parte Anyaipoma (2014), afirma que la cepa Ps 42 (*Pseudomonas sp.*) mediante la técnica de peletización, en semillas de ‘trébol’ (*Trifolium pratense*) generó un efecto positivo en la promoción de crecimiento, así también mostraró una tendencia a incrementar los pesos secos de las plántulas con respecto al control, en 13,26% y 13.02% respectivamente. Por otra parte Ramos (2007), evaluó el efecto de diferentes inoculantes de *Bradyrhizobium* sobre la

actividad microbiana de la rizósfera del cultivo de pallar (*Phaseolus lunatus*). Como también Matos y Zúñiga (2002), afirma la efectividad de cepas de *Rhizobium* sp. y de *Bradyrhizobium* sp. a nivel de laboratorio e invernadero en las variables de pallar Criollo iqueño. Las cepas PLL113 de *Bradyrhizobium* y PLC213 de *Rhizobium* presentaron un mejor comportamiento tanto a nivel de laboratorio como en invernadero.

Como también Nieto (2017), optimizó la producción de biomasa de *Rhizobium* sp. y su uso en la peletización de semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) mostrando entre sus resultados en ensayos a nivel de invernadero, que la peletización de las semillas de quinua con la cepa DZ50 (*Rhizobium* sp). presentó resultados significativos en la evaluación de la altura de las plantas. En la evaluación del peso seco de plantas, el tratamiento DZ50 C/P destaca en ambas variedades (Salcedo y Kcancolla) con valores de 0,064 g y 0,045 g respectivamente, evidenciándose que es favorable el uso de la peletización de las semillas con la cepa DZ50, en la mejora del crecimiento de las plantas de quinua; por otra parte.

(Quezada & Campomanes, 2015) en su investigación de Rendimiento de seis variedades de *Chenopodium quinoa* willd “quinua” en Nuevo Chimbote, da a conocer que las seis variedades en estudio de *Chenopodium quinoa* Willd se adapta a las condiciones de costa de la Zona de San Luis, Nuevo Chimbote, Ancash las variedades de Pasankalla, INIA Salcedo y Rosada de Junín no despuntan en rendimiento; lo que hace pensar que debería evaluar el modo independiente algunos factores que limitan su desarrollo y productividad. Debemos tener en cuenta que en el periodo de crecimiento es una de estas variedades la que presenta mejor desarrollo en el inicio del periodo vegetativo.

Así también Vergani & Zúñiga (2018) afirma que en la germinación y crecimiento de plantas de maca (*Lepidium meyenii* W.) a nivel *in vitro*, se midió el porcentaje de germinación y peso seco y a nivel de invernadero el porcentaje de emergencia, peso seco de raíz y peso seco de la parte aérea, encontrándose que tanto en la germinación como en la emergencia los porcentajes fueron mayores en los tratamientos peletizados que los no peletizados. En los pesos secos a nivel *in vitro* todos los tratamientos peletizados superaron a los tratamientos sin peletizar. Por otro lado Bécquer *et al* (2012) da a conocer que *Sinorhizobium* sp. y *Azospirillum* sp. aumenta la biomasa aérea por ende se evaluó el peso seco aéreo, el peso seco radial, la longitud de tallo, la germinación y el contenido de clorofila foliar, en donde el hongo tuvo mejores resultados en la longitud del tallo (5,58 cm), pero no en algunas

combinaciones con las bacterias, no fue positiva ni mostró resultados uniformes en las variables analizadas.

Por otro lado Choque (2017) afirma que la inoculación de 3 bacterias PGPR en el cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa* willd.) no son capaces de fijar nitrógeno atmosférico y aumentar la fertilidad de suelos a comparación de abonos extraídos de las rizosferas de la Thola. Así también Sotomayor (2013) en su investigación con la haba (*Vicia faba* L.), las bacterias *Rhizobium leguminosarum* es determinada como la promotora del crecimiento de la planta.

## 2.2. Marco teórico

### 2.2.1. Bacterias promotoras de crecimiento (PGPR)

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) son aquellas que promueven o favorecen el desarrollo y crecimiento de las plantas (Moreno *et al.*, 2018) por medio de mecanismos directos o indirectos (López *et al.*, 2017), existen dos tipos de bacterias de tierra que tienen la capacidad de actuar como PGPR; bacterias rizosféricas (localizadas alrededor de las raíces) y bacterias endofíticas (localizadas en el tejido de la misma planta) (Jain & Das, 2016). Ambas bacterias pueden promover el crecimiento de la planta por mecanismos similares, la diferencia principal es que las PGPR endofíticas, una vez que se establecen dentro de los tejidos de la planta huésped, ya no están sujetas a los cambios del suelo porque estas condiciones cambiantes pueden inhibir el funcionamiento y proliferación de las PGPR rizosféricas, incluye variaciones de temperatura, pH y cantidad de agua de la tierra, presencia de bacterias que compiten por sitios en la superficie de la raíz de la planta huésped (Santoyo *et al.*, 2016).

#### a. Bacterias rizosféricas promotoras del crecimiento vegetal

La expresión *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) fue acuñada por J. W. Kloepper y M. N. Schroth en 1978, para describir las bacterias que habitan la rizósfera y que estimulan el desarrollo y rendimiento de las plantas (López *et al.*, 2017). Las PGPR representan alrededor del 2 al 5 % de las bacterias rizosféricas. Los siguientes géneros de bacterias han sido reportados como PGPR: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*,

*Enterobacter, Erwinia, Flavobacterium, Klebsiella, Micrococcous, Pantoea, Pseudomonas, Rhizobium y Serratia* (Moreno *et al.*, 2018).

Los efectos de las PGPR en las plantas ocurren a través de mecanismos directos e indirectos, o una combinación de ambos (Lugtenberg & Kamilova, 2009; Moreno *et al.*, 2018; Pii *et al.*, 2015; Santoyo *et al.*, 2016), como se observa en la **Tabla 1**, el resumen los mecanismos de las rizobacterias y los cultivos en los cuales se evidenció dichos mecanismos (Moreno *et al.*, 2018)

Los mecanismos directos ocurren cuando las bacterias sintetizan metabolitos o elementos nutritivos dentro de las plantas (López *et al.*, 2017). Entre los mecanismos directos destacan: la fijación de nitrógeno, la síntesis de fitohormonas, vitaminas y enzimas, la solubilización de fósforo inorgánico y la mineralización de fosfato orgánico, la oxidación de sulfuros, el incremento en la permeabilidad de la raíz, la producción de nitritos, la acumulación de nitratos, la disminución de la toxicidad por metales pesados y de la actividad de la enzima ACC desaminasa, la secreción de sideróforos, la reducción de los niveles de etileno en los suelos, y el incremento de la permeabilidad de las raíces. (Moreno *et al.*, 2018; Pii *et al.*, 2015)

Los mecanismos indirectos de las PGPR lo realizan por medio de efectos antagonistas contra patógenos (Satyaprakash *et al.*, 2017) y lo componen mecanismos que favorecen: la reducción o eliminación de microorganismos fitopatógenos a través de la elaboración de sustancias antimicrobianas como enzimas líticas o una combinación de éstas; por competencia de nutrimentos o de espacio en el nicho ecológico, así como por estimulación de las defensas naturales de la planta mediante mecanismos de biocontrol; la inducción de resistencia sistémica a un amplio espectro de organismos patógenos y la producción de sideróforos, como mecanismo para secuestrar el Fe disponible en los suelos y con esto limitar el desarrollo y la presencia de dichos fitopatógenos (Moreno *et al.*, 2018; Pii *et al.*, 2015)

**Tabla 1.** Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, efectos y cultivos donde se han evaluado.

PGPR	Efecto	Cultivos
<i>Azospirillum spp.</i> , <i>Azotobacter spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Burkholderia spp.</i> , <i>Gluconacetobacter spp.</i> , <i>Herbaspirillum spp.</i>	Biofertilización Fijan N <sub>2</sub>	Maíz, arroz, trigo, sorgo, caña de azúcar.
<i>Bacillus spp.</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Streptomyces spp.</i> , <i>Paenibacillus spp.</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Azospirillum spp.</i>	Biocontrol (enfermedades, patógenos e insectos)	Tomate, tabaco, pepino, pimiento, morrón, maní, alfalfa, garbanzo, frijol, ciruelo
<i>Methylobacterium spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Alcaligenes spp.</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Variovorax spp.</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Azospirillum spp.</i> , <i>Rizobium spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i>	Elongación y crecimiento	Nabo, clavel, canola, soya, frijol, maíz, judías, chícharos.
<i>Aeromonas spp.</i> , <i>Agrobacterium spp.</i> , <i>Alcaligenes spp.</i> , <i>Azospirillum spp.</i> , <i>Bradyrhizobium spp.</i> , <i>Comamonas spp.</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Rizobium spp.</i> , <i>Paenibacillus spp.</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i>	Productoras de fitohormonas (AIA, citoquinas, giberelinas)	Arroz, lechuga, trigo, soya, rábano, colza, aliso.

Adaptado de Moreno *et al.*, 2018.

### **b. Bacterias endofíticas promotoras del crecimiento vegetal**

Los endófitos bacterianos (PGPBE, Plant growth promoting bacterial endophytes) son bacterias que viven en el tejido de la planta y tienen un efecto benéfico más directo. Los endófitos bacterianos están agrupados en 5 grupos: dentro de ellos se encuentra *Pseudomonadales*, *Rhizobiales* (Santoyo *et al.*, 2016). Los mecanismos empleados por el cual las PGPBE promueven el crecimiento de plantas son de forma directa y de forma indirecta similares a las PGPR, directamente (Lugtenberg & Kamilova, 2009), pueden facilitar la adquisición de recursos del ambiente como nitrógeno, fósforo y hierro; o pueden modular o regular varias hormonas de la planta como auxinas, citocinas o etileno; Indirectamente, por medio de la limitación del daño a la planta provocada por otros

microorganismos patógenos (bacterias, hongos y nemátodos) (Akansha & Sampa, 2016); por medio de la producción de antibióticos, enzimas que degradan la pared bacteriana, disminución de los niveles de etileno de la planta, resistencia sistémica inducida, disminución de patógenos que captan el hierro, y síntesis de componentes volátiles que inhiben a patógenos. (Santoyo *et al.*, 2016) (Roquigny *et al.*, 2017).

### 2.2.2. Género *Pseudomonas*

El nombre científico del género *Pseudomonas* fue descrito morfológicamente por Migula en el año de 1894, la taxonomía de este género.

Taxonomía del genero *Pseudomonas sp.*

Superreino: *Bacteria*

Filum: *Proteobacteria*

Clase: *Gammaproteobacteria*

Orden: *Pseudomonadales*

Familia: *Pseudomonadaceae*

Género: *Pseudomonas*

#### a. Características generales

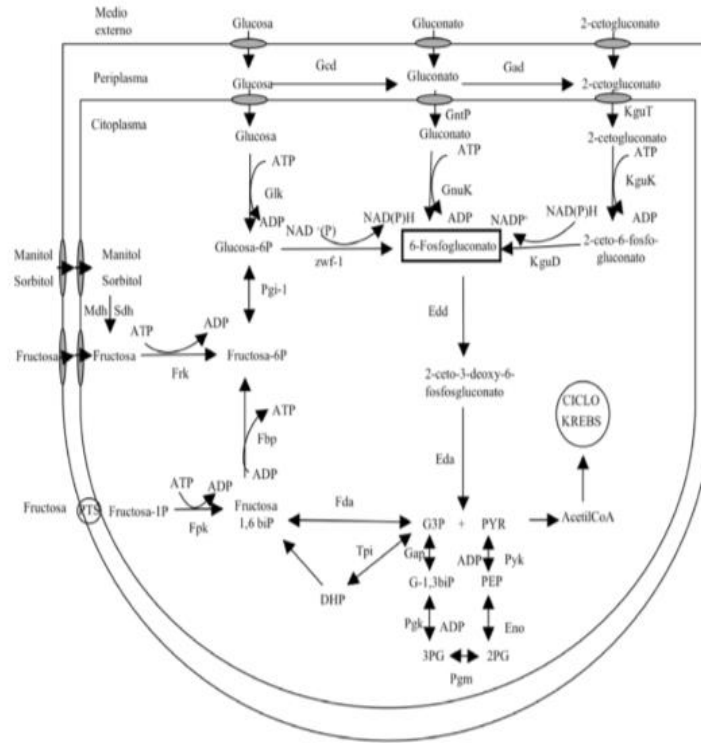
El género *Pseudomonas* es un gran grupo de cepas bacterianas Gram-negativas de vida libre de amplia distribución, como en la tierra y el agua, tienen forma de barras no esporulan, usualmente tienen motilidad propia (Goita, 2014), son consideradas ubicuas, juegan un rol importante en el reciclaje de nutrientes (Anyaipoma, 2014), usualmente se cultivan a pH neutro, así también, las *Pseudomonas* son biodegradadores, controladores biológicos y PGPR, para el desarrollo de las plantas son importantes porque aumenta la absorción de agua y nutrientes, la producción y segregación de reguladores de crecimiento de plantas como auxinas, giberelinas y citoquininas, biocontrol de patógenos, desarrollo de las raíces (Anyaipoma, 2014).

Así también se cultivan a pH neutro este género beneficia el desarrollo de la planta mediante el aumento de la toma de agua y nutrientes, la producción y segregación de reguladores del crecimiento como las auxinas, giberelinas y citoquininas, biocontrol de patógenos y desarrollo de las raíces (Nelson *et al.*, 2002), además se han descrito aproximadamente 60 especies del género (Del Castillo, 2008). Además se sabe que las cepas son inocuas a diferencia de las patógenas, no portan los genes que codifican exotoxinas, enzimas hidrolíticas específicas, factores a respuesta hipersensitiva y sistemas de secreción tipo (Nelson *et al.*, 2002), en contraste ambas cepas (patógenas e inocuas), expresan genes, adhesinas, proteínas relacionadas con el estrés (Antoun & Prévost, 2005).

Son bacterias agrícolas con capacidad PGPR y pueden ser utilizadas como inoculantes en diversos cultivos para promover el crecimiento y también ayudan al mantenimiento de los suelos y son metabólica y funcionalmente más diversas como es en el caso del trébol rojo (*Trifolium pratense L.*) la inoculación con *Pseudomonas* incrementan el porcentaje de germinación en hasta un 10% y la biomasa de las plantas en un 7% (Liceta, 2015).

Fisiológicamente este género se caracteriza por tener elevada versatilidad metabólica, utilizando una amplia gama de compuestos orgánicos como los hidratos de carbono, ácidos alifáticos, aminas, amidas, aminoácidos, compuestos aromáticos y alcoholes (Antoun & Prévost, 2005; Anyaipoma, 2014; Del Castillo, 2008), la mayoría de *Pseudomonas* usan la vía Entner-Doudorof, la cual se descubrió en *Pseudomonas saccharophila*, (Del Castillo, 2008) en la **Figura 1.** se muestra el metabolismo de la glucosa y fructosa descubiertas en *Pseudomonas saccharophila*. (Eckford *et al.*, 2002; Lugtenberg & Kamilova, 2009) afirman la capacidad del género *Pseudomonas* de utilizar hidrocarburos en ambientes deficientes de nitrógeno.





**Figura 1.** El metabolismo de la glucosa y fructosa descubiertas en *Pseudomonas saccharophila*.

Fuente: Eckford *et al.*, 2002; Lugtenberg & Kamilova, 2009.

Los Rhizobium son bacilos móviles Gram – negativos con pared celular, flagelados, aerobios que miden 0.5 – 0.9 x 1.2 – 3.0 µm (López *et al.*, 2017), las bacterias del género *Rhizobium* son fijadores de nitrógeno que estimulan en las raíces de las leguminosas la formación de estructuras nodulares, dentro de las cuales el N<sub>2</sub> atmosférico se reduce a iones amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) para ser asimilados por la mayoría de las plantas (López *et al.*, 2017).

La taxonomía el nombre científico del género *Rhizobium* fue descrito primeramente por Frank en el año 1889.

Superreino: *Bacteria*

Filum: *Proteobacteria*

Clase: *Alphaproteobacteria*

Orden: *Rhizobiales*

Familia: *Rhizobiaceae*

Género: *Rhizobium*

### 2.2.3. La Quinua

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es un grano nativo de la región de los Andes (Mujica *et al.*, 2004; Mujica *et al.*, 2013), y de Sudamérica (Ministerio de Agricultura y Riego, 2017), ampliamente consumido en países como Perú, Bolivia, Ecuador, Chile y Argentina (Bojanic, 2011). La historia del consumo humano se remonta entre 3000 a 5000 años (Mujica *et al.*, 2013) El cultivo de quinua se encuentra en un proceso de expansión en diferentes áreas geográficas del planeta, debido a su capacidad de adaptación a una amplia gama de zonas agroecológicas (Mujica *et al.*, 2004). Es una planta que se puede cultivar a nivel del mar, en los valles interandinos, en el altiplano, y en diversas condiciones climáticas, y esto se explica por la amplia diversidad genética que posee, que le permite adaptarse a diferentes entornos con condiciones hostiles como tierras de altiplanos, temperaturas bajas (heladas), y suelos con elevado nivel de salinidad (Ministerio de Agricultura y Riego, 2017; Mujica *et al.*, 2004).

Las fitohormas producidas por las plantas como las auxinas, citosinas y giberelinas son sintetizadas en bajas concentraciones y actúan como mensajeros químicos y reguladores del desarrollo y crecimiento de las plantas (Roquigny *et al.*, 2017), los requerimiento de nutrientes como el fosfato es esencial en las plantas para el crecimiento y desarrollo de estas (Sanchez, 2011). En muchas plantaciones los niveles de fósforo total en la tierra son debido a fertilizantes (Deza, 2018), que proporcionan niveles altos de fósforo en su forma insoluble y no están disponibles para la nutrición de las plantas. Pero existe bacterias solubilizantes de fosfato que representan entre 1% a 50% del total de las bacterias en la tierra (Roquigny *et al.*, 2017). La taxonomía de *Chenopodium quinoa* Willd. se encuentra con el ID taxonómico: 63459 en *The National Center for Biotechnology Information*.

Superreino: *Eukaryota*

Reino: *Viridiplantae*

Filum: *Streptophyta*

Sub filum: *Streptophytina*

Orden: *Caryophyllales*

Familia: *Chenopodiaceae*

Sub familia: *Chenopodioideae*

Tribu: *Atripliceae*

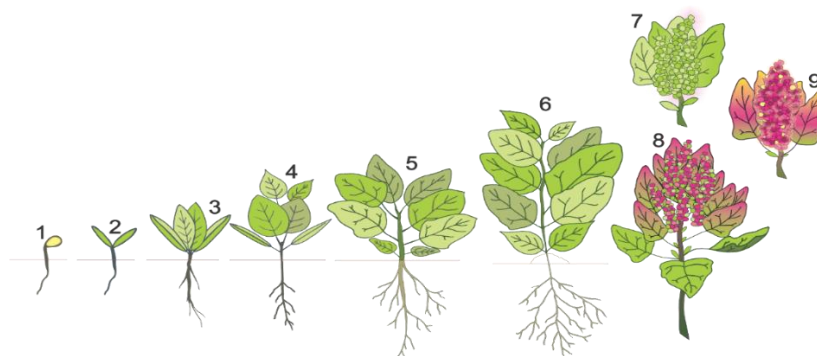
Género: *Chenopodium*

Especie: *Chenopodium quinoa*

El rendimiento del cultivo de quinua en el Perú depende de varios factores, como la presencia de precipitaciones y temperaturas favorables, la semilla de la quinua es propensa a la plaga del mildiu (*Pernospora variabilis*) (Mujica *et al.*, 2004)

### a. La fenología del cultivo de la quinua

La fenología son los cambios externos visibles del proceso de desarrollo de la planta, los cuales son el resultado de las condiciones ambientales (Mujica *et al.*, 2013), presenta fases fenológicas bien marcadas y diferenciables, las cuales permiten identificar los cambios que ocurren durante el desarrollo de la planta, se han determinado doce fases fenológicas (Mujica *et al.*, 2013; Mujica, 1989)



**Figura 2.** Fases fenológicas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). 1 y 2 Emergencia. 3 Dos hojas verdaderas. 4 Cuatro hojas verdaderas. 5 Seis hojas verdaderas. 6 Ramificación. 7 Inicio de panojamiento. 8 Panojamiento. 9 Inicio de floración. 10 Floración o antesis. 11 Grano lechoso. 12 Grano pastoso. 13 Madurez fisiológica. 14 Madurez de cosecha. Adaptación de Mujica *et al.*, 2013.

### b. Microbiología del suelo

La capacidad de los microorganismos es apropiado a la agricultura en la medida que afecta factores significativos del suelo tales como su estructura, la deterioro de los residuos orgánicos frescos (Goita, 2014), la vasta disponibilidad de los nutrimentos a nivel de la rizósfera, la formación y degradación del humus y la actividad de la microflora sobre la sobrevivencia o inhibición de patógenos o plaga (Orozco & Martínez, 2009).

Los suelos contienen una amplia variedad de formas biológicas, con tamaños muy diferentes, como los virus, bacterias, hongos, algas, colémbolos, ácaros, lombrices,

nematodos y hormigas, un suelo naturalmente fértil es aquel en el que en el que los organismos edáficos van liberando nutrientes orgánicos, a partir de la reservas orgánicas, con velocidad suficiente para mantener un crecimiento rápidos de las plantas (Llanos, 2017), la rizósfera es el volumen interfacial entre las raíces de la planta y el suelo en el que se desarrolla una población microbiana muy superior a la del resto del suelo la componen los hongos, bacterias, protozoos y nematodos (Fuentes, 2006),

La colonización del género *Pseudomona sp.* y *Rhizobium sp.* en la rizósfera es un punto de acceso con la raíz y juegan un papel importante como administrador de la salud de la planta, colonizando la raíz rápidamente y mejoran el crecimiento y rendimiento directo o indirecto de la planta (Akansha & Sampa, 2016), mediante la producción de sustancias como las fitohormonas como el ácido acético indol (AAI), citoquinas, giberelinas, e inhibidores de la producción de etileno, que pueden ayudar indirectamente con el incremento de superficie de absorción de las raíces de las plantas para la recaptación de agua y nutrientes (Akansha & Sampa, 2016) y son conocidas como biofertilizantes (Lugtenberg & Kamilova, 2009).

### **c. Solubilización de fosfato**

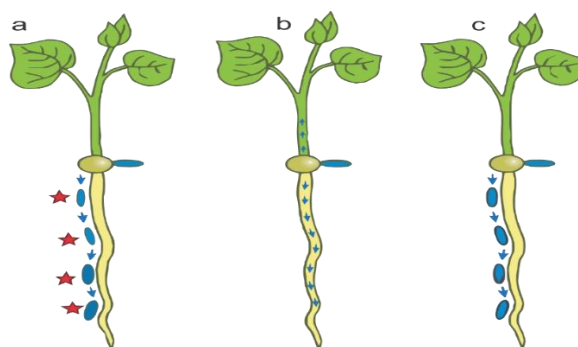
La forma orgánica del fósforo se encuentra en la tierra desde el 20 al 80% (Pii *et al.*, 2015) debido a que en muchas plantaciones los niveles de fósforo total en la tierra son debido a fertilizantes, que proporcionan niveles altos de fósforo en su forma insoluble y no están disponibles para la nutrición de las plantas (Lugtenberg & Kamilova, 2009; Roquigny *et al.*, 2017), la presencia de bacterias solubilizantes de fosfato es muy de vital importancia, estas bacterias representan entre 1% a 50% del total de las bacterias en la tierra. Una alta concentración de estas bacterias se encuentra en la rizósfera a comparación de la tierra circundante (Roquigny *et al.*, 2017), los microorganismos solubilizantes de fosforo son (PSB, “*Phosphate Solubilising Bacteria*”) más característicos son los del género *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* y *Enterobacter*. (Pii *et al.*, 2015; Satyaprakash, *et al.*, 2017).

La capacidad de las bacterias de la rizósfera de solubilizar minerales con fósforo insoluble ha sido atribuida a la secreción de ácidos orgánicos (gluconato, citrato, lactato y succinato) y diversas enzimas, fosfatasas, fitasas (enzima capaz de liberar fosfato y residuos minerales de fitato), C-P liasas (rompe enlaces C-P de compuestos organofosforados), que convierten

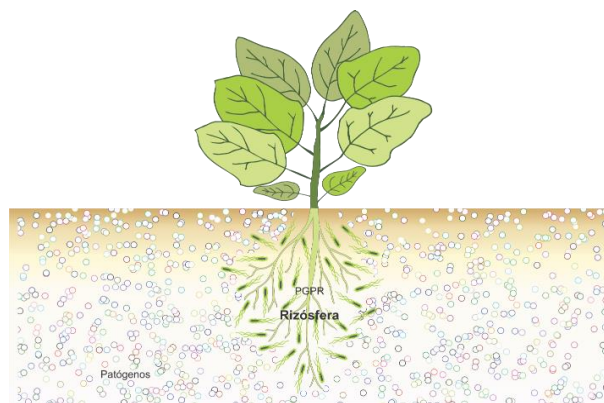
el fosfato insoluble a iones solubles. (Lugtenberg & Kamilova, 2009; Roquigny *et al.*, 2017)  
Las plantas disponen de la solubilización excedente a las demandas nutricionales de estas bacterias. (Roquigny *et al.*, 2017)

#### d. Biocontrol de patógenos

El biocontrol por parte de rizobacterias comienza con el recubrimiento de la semilla, a partir de ella comienzan a producir y transportar diversas sustancias junto con el crecimiento de la raíz, al mismo tiempo se distribuyen por toda la raíz para competir por nichos y nutrientes lo que beneficia a ambos (Lugtenberg & Kamilova, 2009), **Figura 3.**



**Figura 3.** Mecanismo de control biológico de la patógenos de las plantas.  
Adaptación de Lugtenberg & Kamilova, 2009.



**Figura 4.** Biocontrol de patógenos por PGPR.  
Adaptación de Akansha, 2016.

El biocontrol comienza con el recubrimiento de la semilla con la bacteria de biocontrol  
(a) Antibiosis: la bacteria coloniza el sistema de raíz en crecimiento y transporta moléculas antibióticas alrededor de la raíz, de igual modo se ilustra las bacterias patógenas que dañan

la raíz (indicados por estrellas). (b) Resistencia sistémica inducida: una colonización de la raíz localizada es suficiente para inducir esta resistencia a través de productos bacterianos que inducen una señalización sistémica, el cual resulta en la protección de la planta frente a diferentes microorganismos (similar a la inmunidad innata de los mamíferos). (c) Competición por nutrientes y nichos: las bacterias de biocontrol se movilizan por quimiotaxis a lo largo de la raíz en crecimiento, al mismo tiempo que atrapan nutrientes para dejar fuera de competición a patógenos y ocupando nichos en la raíz (Lugtenberg & Kamilova, 2009). Finalmente estas bacterias de biocontrol (como las PGPR) protegen a la planta de patógenos **Tabla 2.**

**Tabla 2.** Patógenos de plantas controlados por *Pseudomonas spp.* y el modo de acción involucrado en el biocontrol.

Categoría del patógeno	Patógenos	Sistema plantar	Cepa de biocontrol	Mecanismo de biocontrol
	<i>Fusarium solani</i>	Frijol mungo	<i>Pseudomonas sp. NAFP-19, NAFP-31 and NAFP-32</i>	Antibiosis, competición
		Trigo	<i>P. fluorescens JC14-07, HC9-07, and HC13-07</i>	Antibiosis (PCA)
	<i>Gaeumannomyces graminis var. Tritici</i>	Trigo	<i>P. fluorescens VUPf5</i>	Antibiosis (HCN, PCA), competición (sideróforos)
		Cebada	<i>Pseudomonas sp. DSMZ 13134</i>	Antibiosis, competición, ISR

Adaptación de Roquigny *et al.*, 2017.

La producción de antibióticos, sideróforos biosurfactantes, fenacinas, ácido acético indol, y entre otras sustancias por *Pseudomonas spp.* ha sido frecuentemente asociada con la supresión de patologías de las plantas, esto incluye un amplio espectro de antibióticos, como: 2,4-diacetilploroglucinol (DAPG) o derivados de fenazina que podrían mejorar la competencia ecológica a través del antagonismo hacia los competidores, donde se representa

la rizósfera junto con las PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) y los patógenos de las plantas (Roquigny *et al.*, 2017).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Zona de estudio

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano (UNA) – Puno y en el CIP Camacani – UNA- Puno, ubicado a 28,06 Km del centro de la ciudad de Puno localizado en las coordenadas  $15^{\circ}57'10''\text{S}$   $69^{\circ}51'31''\text{W}$  a 3.876 m.s.n.m. véase la **Figura 5**.



**Figura 5.** CIP Camacani de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno.

#### 3.2. Tipo de Investigación

La Investigación fue de tipo experimental y analítico.



### 3.3. Método

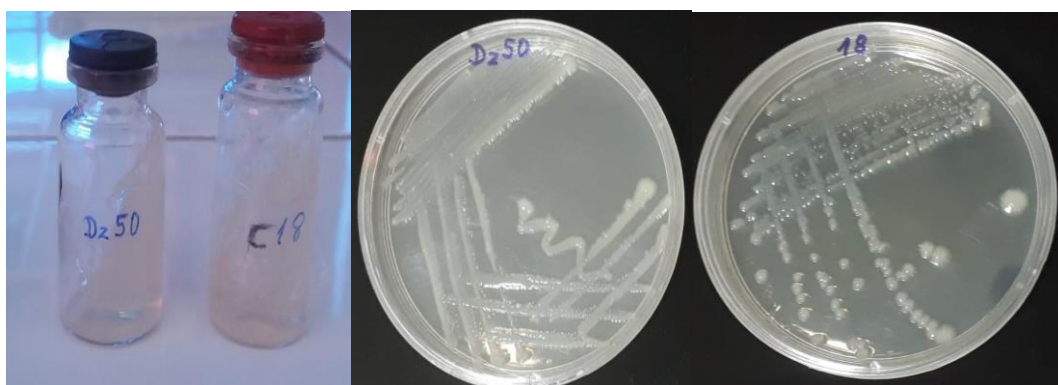
- **Diferencia porcentual de germinación *in vitro* de semillas de quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, en forma individual y asociada.**

Para determinar la diferencia porcentual de germinación *in vitro* de semillas de quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, en forma individual y asociada. se ejecutó en 3 fases: Fase pre - analítica, fase analítica y fase post analítica.

#### Fase Pre - analítica.

##### 3.3.1. Adquisición de cepas bacterianas.

Las cepas fueron obtenidas del Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología (LEMYB) de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Según sus características de remisión, la cepa PQLMT18 (*Pseudomonas sp.*) fue aislada de rizósfera de quinua de campo de cultivo de la Estación Experimental INIA Salcedo – Puno; La cepa DZ50 también fue aislada de rizósfera de quinua de campos de cultivo de la región Puno. Ambas se encuentran conservadas en el banco de cepas del LEMYB y fueron transportadas en viales con agar nutritivo (agar cepa) en envase hermético de polipropileno con gel packs, para luego reactivarlas en caldo levadura manitol (LMC) por 24 horas a 28 °C se cogió el inóculo con la ayuda del aza de colle para cultivar en el medio agar levadura Manitol (LMA) a 28°C por 24 horas, una placa por especie.



**Figura 6.** Cepas PQLMT 18 y Dz50 en el medio LMA (Levadura Manitol Agar).

### 3.3.2. Selección y desinfección de semillas de quinua.

Se utilizó la variedad Salcedo-INIA, para lo cual se seleccionaron semillas con características homogéneas. Se desinfectó en solución de alcohol al 70 % reposando durante 3 minutos, seguidamente se realizaron 3 enjuagues con agua destilada estéril, luego se prosiguió con desinfección en hipoclorito de sodio al 3 % durante 3 minutos y finalmente 6 enjuagues con agua destilada estéril.

#### Fase analítica

### 3.3.2. Inoculación microbiana de semillas de quinua.

Se procedió la inoculación de semillas de quinua con cepas bacterianas PQLMT18 y DZ50 con el inóculo en su fase exponencial; para ello, se sembró una colonia de la cepa pura en un matraz de 50 ml de caldo nutritivo, se incubó a 28 °C, durante 24 horas, hasta obtener una población microbiana de  $10^8$ - $10^9$  UFC/ml. **Figura 7.**



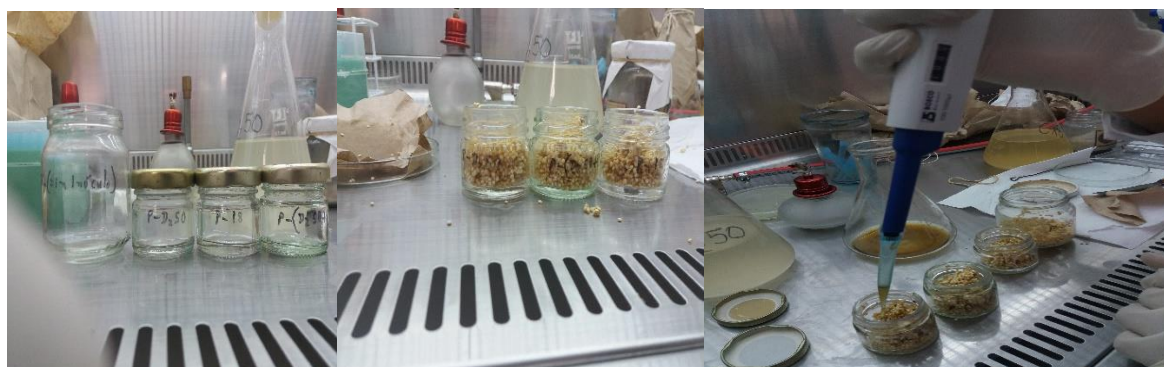
**Figura 7.** Cultivo en medio líquido de *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

La cuantificación de la población microbiana, se realizó mediante recuento en placa por diluciones seriadas en placa.



**Figura 8.** Preparación de diluciones seriadas  $10^{-1}$  a  $10^{-9}$  de *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* y recuento de colonias.

En seguida se procedió a colocar las semillas desinfectadas a los frascos con los inóculos preparados bajo estricta libre de contaminación, para ello se realizó en la cámara de flujo laminar y se dejó que las semillas se empapen con el inóculo en su fase exponencial por 10 minutos, según los tratamientos establecidos. **Figura 9.**



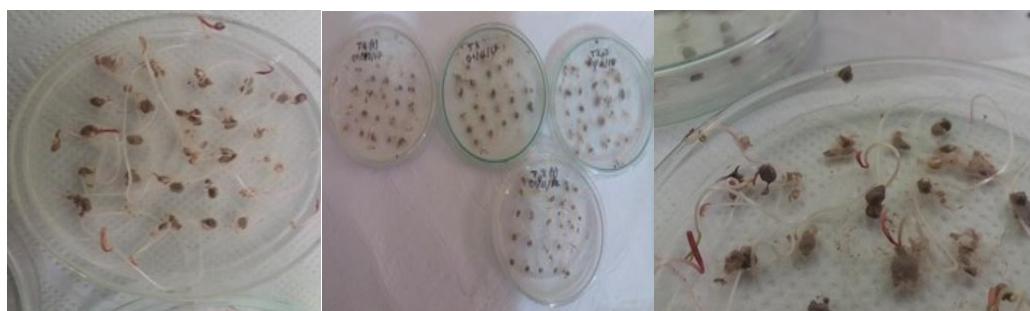
**Figura 9.** Inoculación de semillas con las cepas de *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

### 3.3.4. Evaluación de germinación

Para la evaluación de la germinación, se procedió a dispensar las semillas inoculadas según los tratamientos establecidos, en placas Petry con agar agua (25 semillas por cada placa) **Figura 10**; se realizaron 4 repeticiones por tratamiento. Todo el proceso fue realizado en condiciones de esterilidad. Se evaluó el porcentaje de germinación de las semillas de quinua inoculadas con respecto a los controles a partir de las 4 horas hasta las 24 horas. Los tratamientos empleados en esta prueba se detallan en la **Tabla 3**.

**Tabla 3.** Tratamientos para ensayos de laboratorio y a nivel de campo.

Abreviatura	Tratamiento
T1	Control negativo
T2	Semillas inoculadas con <i>Pseudomonas sp.</i>
T3	Semillas inoculadas con <i>Rizhobium sp.</i>
T4	Semillas inoculas con <i>Pseudomonas sp.</i> y <i>Rhizobium sp.</i>

**Figura 10.** Germinación *in vitro* de semillas de quinua, inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* y semillas sin inóculo. FCCBB- 02/11/17.

- **Evaluación del efecto de la inoculación con *Pseudomonas sp.*, *Rhizobium sp.*, en forma individual y asociada, sobre el porcentaje de emergencia, peso fresco, peso seco, longitud de tallo y peso seco de la semilla del cultivo de quinua en macetas.**

Este objetivo se ejecutó al termino del objetivo 1.

### 3.3.5. Cultivo en maceta campo abierto.

Se realizó en el Centro de Investigación de la Univercidad Nacional del Altiplano – Puno (CIP – Camacani), localizado a 28.06 km del centro de Puno. (**Figura 5**). El cual consistió en sembrar las semillas con inóculo microbiano distribuidos según los tratamientos en macetas con sustrato consistente en una mezcla de tierra de chacra de la misma zona (95 %) y estiércol de ovino (5%). El área se cercó con mallas para evitar daños materiales y experimental. En cada maceta se sembró 10 semillas de quinua. **Figura 11.**



**Figura 11.** Siembra de semillas inoculadas en maceta a nivel de campo abierto, en el CIP Camacani de la UNA – Puno.04/11/17

Luego de la siembra en maceta a campo libre se pasó a realizar las visitas de campo, para ver y realizar la biometría como el porcentaje de emergencia, longitud, peso fresco y peso seco y se realizó de la siguiente manera.

- Se evaluó el porcentaje de emergencia a los 9 días después de la siembra.
- La evaluación de la longitud del tallo se realizó a los 50,108,176 después de la siembra.
- La evaluación del peso fresco de la quinua se realizó a los 50,108,176 días después de la siembra.
- La Evaluación del peso seco en el crecimiento de la quinua sea realizó a los 50,108 y 176 después de la siembra.
- La evaluación del peso seco de la semilla de la quinua se evaluó al final de la cosecha de la quinua.

Así mismo se realizó la reinoculación a las 8 semanas equivalente a los 56 días después de la siembra a nivel de maceta en el CIP- Camacani, el cual consistió en la preparación del medio de cultivo caldo nutritivo de 250 ml llevados a la concentración de  $10^9$  UFC/ml de *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, para suministrar a la tangente del tallo con la tierra.

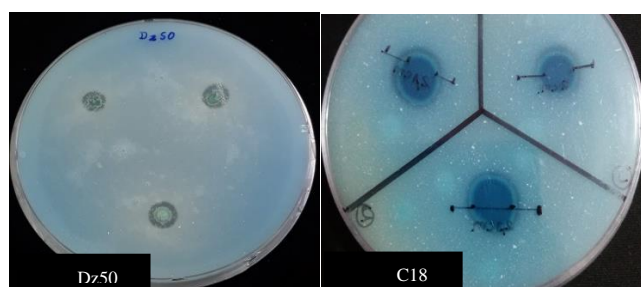
**Figura 12.**



**Figura 12.** Reinoculación con las cepas de *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* y de forma asociada en la planta de la quinua. CIP- Camacani. 29/12/2017.

### 3.3.6. Prueba de solubilización de fosfato tricálcico

Este ensayo se llevó a cabo para determinar la capacidad de las cepas DZ50 y PQLMT18 (C18) de solubilizar fosfato tricálcico. Para este ensayo la cepa se sembró en medio caldo nutritivo por 24 horas, hasta que haya alcanzado una población aproximada de  $10^8$  UFC/ml. Luego se sembró 5  $\mu$ l de la cepa en el medio basal NBRIP modificado con fosfato tricálcico (Nautiyal, 1999) y se incubó por un periodo de 5 días a una temperatura de 28°C, luego se midió el halo de solubilización, el cual indican que estas cepas solubilizan el fosfato tricálcico.



**Figura 13.** Solubilización de fosfato tricálcico por las cepas DZ50 (*Rhizobium sp.*) y PQLMT18 (*Pseudomonas sp.*).

### 3.3.7. Análisis estadístico

Se realizó ANVA de Diseño Completo al Azar con 4 tratamientos con 6 repeticiones, siendo en total 24 unidades experimentales distribuidas de la siguiente manera:

- ✓ Tratamiento 1 (TC): Sin inóculo bacteriano (control negativo).
- ✓ Tratamiento 2 (T2): Inóculo *Pseudomonas sp.*
- ✓ Tratamiento 3 (T3): Inóculo *Rhizobium sp.*
- ✓ Tratamiento 4 (T4): Inóculo asociado *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para el contraste de medias, se realizó la prueba múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0.05. Para el análisis estadístico se usó el software estadístico Infostat en su versión estudiantil (Infostat 2018).

El valor de cada unidad experimental  $Y_{ij}$ , según el siguiente Modelo Estadístico Lineal.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}, \quad \begin{array}{l} i = 1, 2, \dots, t \\ j = 1, 2, \dots, r \end{array}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Es una observación en la  $j$ -ésima unidad experimental, sujeta al  $i$ -ésimo tratamiento.

$\tau_i$  = Es el efecto del  $i$ -ésimo tratamiento.

$\mu$  = Es el efecto de la media general o constante común.

$\varepsilon_{ij}$  = Efecto verdadero de la  $j$ -ésima unidad experimental (replica), sujeta al  $i$ -ésimo tratamiento (error experimental).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Diferencia porcentual de germinación *in vitro* de semillas de quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, en forma individual y asociada.

Se evaluó la inoculación de bacterias PGPR *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* en semillas de quinua variedad INIA salcedo, bajo el estudio de 4 tratamientos y 4 repeticiones: Control negativo (T1), semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (T3) y semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) a tempera ambiente; es decir que de las 25 semillas inoculadas y semillas sin inoculó (control negativo) sembradas en agar agua a 0.75% está expresada en porcentaje, evidenciado que las semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (T3) resultó el de mayor eficiencia en la evaluación de germinación *in vitro* con un 87% con relación al control negativo (T1) con un 84% de germinación *in vitro*, seguido del T2 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) con un 86% de germinación como también el T4 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*) con un 83% esta última resultó siendo inferior al T1 (control negativo) semillas sin inóculos. (Tabla 4).

**Tabla 4.** Porcentaje de germinación *in vitro* de semillas de quinua inoculadas (%) en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB, 02/11/17.

Tratamiento	Repeticiones				Promedio (%)	D.E.	C.V. (%)
	R1*	R2*	R3*	R4*			
(T1)	84.00	92.00	80.00	80.00	84.00	5.66	6.73
(T2)	84.00	80.00	88.00	92.00	86.00	5.16	6.00
(T3)	92.00	88.00	80.00	88.00	87.00	5.03	5.79
(T4)	88.00	84.00	88.00	72.00	83.00	7.57	9.12

R1\*, R2\*, R3\*, R4\* son las 4 repeticiones realizadas por cada tratamiento

T1: control negativo

T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

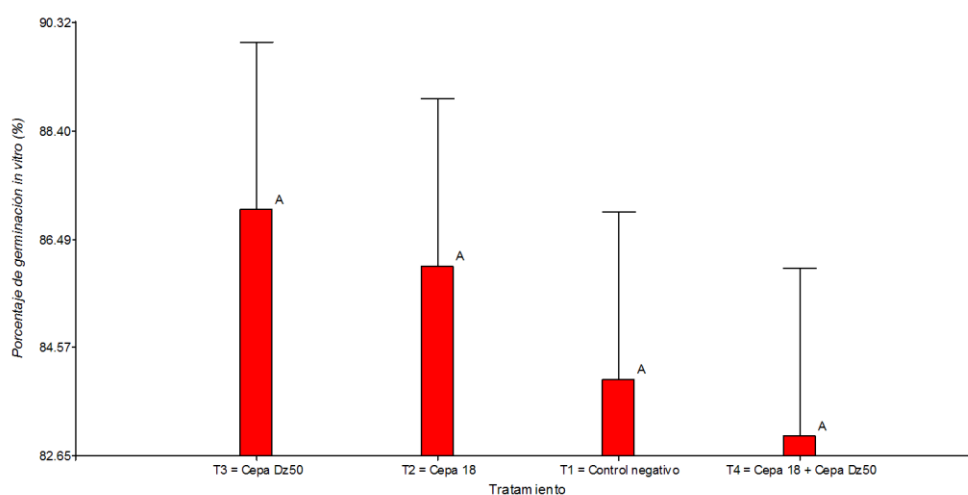
T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para determinar la diferencia porcentual de germinación *in vitro* de semillas de quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* a tempera ambiente, teniendo en cuenta



que fueron 25 semillas por cada unidad experimental representando el 100 % con relación a las semillas inoculadas y el control negativo (semillas sin inóculo bacteriano) (**Anexo, Figura 26**), se realizó el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba y si al menos uno de los tratamientos es diferente a los demás.

En la evaluación de germinación *in vitro* de las semillas de quinua variedad INIA inoculadas con *Pseudomonas sp* y *Rhizobium sp.*, el estadístico  $F = 0.38$ ,  $GL = 3$ , con el valor de  $P = 0.7710$  resultó ( $P > 0.05$ ) estadísticamente no es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna la cual indica que entre los 4 tratamientos no hubo una diferencia significativa (**Figura 14**), pero si hubo una diferencia aritmética donde el tratamiento T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) empezó a germinar a las 4 horas después de la inoculación, seguida del tratamiento T2 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*) que empezó a germinar a las 5 horas, en seguida del tratamiento T1 (control negativo) que empezó a germinar a las 5 horas con 50 minutos y el T4 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*) las cuales empezaron a germinar a las 6 horas después de la inoculación a nivel *in vitro*.



**Figura 14.** Comparación de porcentaje de germinación *in vitro*, realizado en el Laboratorio de microbiología de la FCCBB, 04/11/17.

En la investigación se obtuvo promedios de germinación *in vitro* de las semillas de quinua entre 83 y 87% de germinación a nivel de laboratorio, los resultados fueron menor e igual a los resultados por (Bendezú, 2018), ya que el obtuvo un 91%, 96% en el porcentaje de

germinación y un 87% siendo igual al porcentaje de germinación de este estudio, esto se debe porque utilizaron diferentes variedades de quinua los de mayor porcentaje corresponden a la quinua blanca y roja respectivamente y la que resultó igual es la quinua negra además no usó bacterias fertilizantes, por otro lado (Anyaipoma, 2014) obtuvo resultados menores, entre 55% y 65% de germinación *in vitro*, esto se debe a posiblemente al factor humedad ya que trabajó con *Pseudomonas sp.* y si también (Vergani & Zúñiga, 2018) obtuvieron porcentajes menores al presente estudio con un 13 % de germinación *in vitro*, esto se debe posiblemente a la utilización de una técnica diferente a la inoculación de semillas.

Según Bécquer *et al* (2015) en su estudio científico, el uso de biofertilizantes como microorganismos autóctonos como una alternativa natural es un medio económicamente atractivo debido a su capacidad de reducir la dependencia de los recursos externos y aumentar la calidad y cantidad de los recursos internos.

La imbibición es la primera etapa de la germinación, inicia con la entrada de agua en la semilla desde el medio exterior. La hidratación de los tejidos de la semilla es un proceso físico con una duración variable según la especie considerada como lo menciona Contreras (2018), la germinación *In vitro* es una totipotencia celular a la vez proporciona de una manera rápida plántulas que sirven como fuente de explantes para llevar a cabo la micropropagación Zurita *et al.*, (2014). En esta investigación se evaluó la germinación *In vitro* de semillas de quinua (*Chenopodium quinoa*), es una planta herbácea anual, dicotiledónea de amplia dispersión geográfica, muy tolerante a factores climáticos adversos como sequía, heladas, salinidad de suelos (Bendezú, 2018) y su periodo de germinación dura de 7 a 10 días (Mujica & Canahua, 1989).

En este estudio la germinación *In vitro* de las semillas de quinua en agar agua al 0, 85 % de solución salina, duró 5 días tanto las semillas inoculadas y semillas no inoculadas, esto se debe a que todas las semillas estaban hidratados adecuadamente la cual se le conoce como imbibición para luego pasar a la segunda etapa denominada fase de germinación "sensu stricto" (en sentido estricto) donde se produce una disminución en la absorción de agua por las semillas (Zurita *et al.*, 2014) (Criollo & Delgado, 2016), durante esta etapa tiene lugar una activación generalizada del metabolismo de la semilla, lo cual es esencial para que se desarrolle la última fase del proceso de germinación (Bendezú, 2018).

Según (Anyaipoma, 2014), el establecimiento exitoso de un cultivo depende de diversos factores como la temperatura, condiciones climáticas, pH del suelo, patógenos, humedad, modo de siembra, viabilidad de la semilla, entre otros, por tanto según este estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de la peletización con la cepa Ps 42 (*Pseudomonas sp.*) en la promoción de crecimiento de *Trifolium pratense*. Con este fin, se evaluaron el crecimiento de la cepa Ps 42 en los medios LMC (extracto de levadura – manitol), A (extracto de levadura – Azúcar rubia), G (glutamato monosódico – manitol) y AG (glutamato monosódico – azúcar rubia), la colonización de este microorganismo en las radículas de las plántulas de maca, se usaron estas semillas porque en el futuro se piensa realizar la peletización en maca y es importante asegurarse que la cepa colonice la radícula de maca para que esta pueda expresar su capacidad PGPR sobre la maca. Además, en la evaluación de la promoción del desarrollo de semillas de trébol peletizadas *In vitro*, los tratamientos PLMC y PG mostraron una tendencia a incrementar los pesos secos de las plántulas con respecto al control N+, en 13.26% y 13.02% respectivamente. Por lo tanto, se recomienda usar el medio de cultivo G y LMC en la preparación de inoculantes para estimular el desarrollo del trébol así como para la elaboración de semillas de trébol peletizadas.

(Cielo & Martínez, 2009) en su investigación de la inoculación con microorganismos fijadores de nitrógeno asimbióticos aislados de la rizósfera de *Pinus patula* en Colombia, en el ensayo *in vivo* de fijadores de nitrógeno. Las plántulas inoculadas con *A. chroococcum* presentaron los mejores promedios en casi todos los parámetros vegetales, de un total de 151 cepas de bacterias aerobias aisladas de la rizósfera de *P. patula*, se recuperaron 62 cepas fijadoras de nitrógeno. Las pruebas bioquímicas sugieren que las bacterias diazotróficas son cercanas a las especies *B. macerans* (35,5%), *Pseudomonas sp.* (29%), *E. agglomerans* (22,6%) y *A. chroococcum* (12,9%), se obtuvo un resultado inferior con respecto a la evaluación de la capacidad de promover el crecimiento vegetal en la quinua a nivel de laboratorio *In vitro*. Por otro lado Liceta (2015) indica que para promover el crecimiento vegetal necesita de hormonas como las auxina, productoras de ácido indol acético, la cual determinó que la concentración de AIA en cada cultivo se determinó al realizar una comparación en curva estándar, en donde el género *Pseudomonas* se encontró que el 36.4 % de las cepas del grupo T1 produjeron AIA en concentraciones menores a 10  $\mu\text{g/ml}$ , el 45.5 % produjo cantidades entre 10-20  $\mu\text{g/ml}$ ; y el 22% (PS4 y PS151) produjeron cantidades superiores al 20  $\mu\text{g/ml}$ . La cepa PS4 registró valores de hasta 23.5  $\mu\text{g/ml}$ .

Así también Liceta (2015) en un primer ensayo se inoculó semillas de quinua de la var. Salcedo INIA con 4 cepas del grupo T1: PS42, PS126, PS144 y PS54; y 5 cepas del grupo de *Pseudomonas* T2: PS01, PS04, PS13, PS43 y PS44. Dando a conocer que el efecto de las cepas en el porcentaje de germinación de las semillas. Cuando la temperatura de incubación fue de 13 °C, a las 12h todas las cepas favorecieron la precocidad de la germinación en comparación al control sin inocular. Sin embargo, cuando la incubación se llevó a cabo a 8 °C, las mismas cepas presentan un porcentaje de germinación inferior al control sin inocular, sobre todo la PS54. Las mayores diferencias se observaron en el primer punto de evaluación a las 12 horas. Entonces cabe resaltar que la germinación es directamente proporcional a la temperatura (T°) tal como lo afirma Deza (2018).

**4.2. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, en forma individual y asociada, sobre el porcentaje de emergencia, longitud de tallo, peso fresco, peso seco y peso seco de la semilla del cultivo de quinua en macetas.**

**a) Porcentaje de emergencia con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, en forma individual y asociada en maceta a campo libre.**

Los resultados de la evaluación del porcentaje de emergencia bajo el estudio de 4 tratamientos y 6 repeticiones, semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), *Rhizobium sp.* (T3), *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) de forma asociada y (T1) control negativo, semillas sin inoculo bacteriano, teniendo en cuenta que la evaluación realizada fue referente al número de semillas que emergieron dentro de los 9 días después de la siembra esto determinó que el mejor tratamiento en emerger fue el control negativo (T1) con 83 % de emergencia con respecto a las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2) con 75 % de emergencia seguida del (T3) semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* y el (T4) semillas inoculadas con ambas cepas resultando un 70 % de emergencia, siendo esta el menor porcentaje de emergencia a nivel de maceta, (**Anexo, Figura 27**)(**Tabla 5**).

**Tabla 5.** Porcentaje de emergencia en maceta a nivel de campo libre a los 9 días después de la siembra, CIP Camacani de la UNA- Puno – 12/11/17.

Tratamiento	Repeticiones						Promedio (%)	D.E.	C.V. (%)
	R1*	R2*	R3*	R4*	R5*	R6*			
(T1)	90.00	80.00	80.00	100.00	60.00	90.00	83.33	13,66	16,40
(T2)	70.00	60.00	80.00	50.00	90.00	100.00	75.00	18,71	24,94
(T3)	90.00	80.00	80.00	50.00	60.00	70.00	71.67	14,72	20,54
(T4)	100.00	50.00	50.00	100.00	50.00	70.00	70.00	24,49	34,99

R1\*, R2\*, R3\*, R4\*, R5\*, R6\* son las 6 repeticiones realizadas por cada tratamiento

T1: control negativo

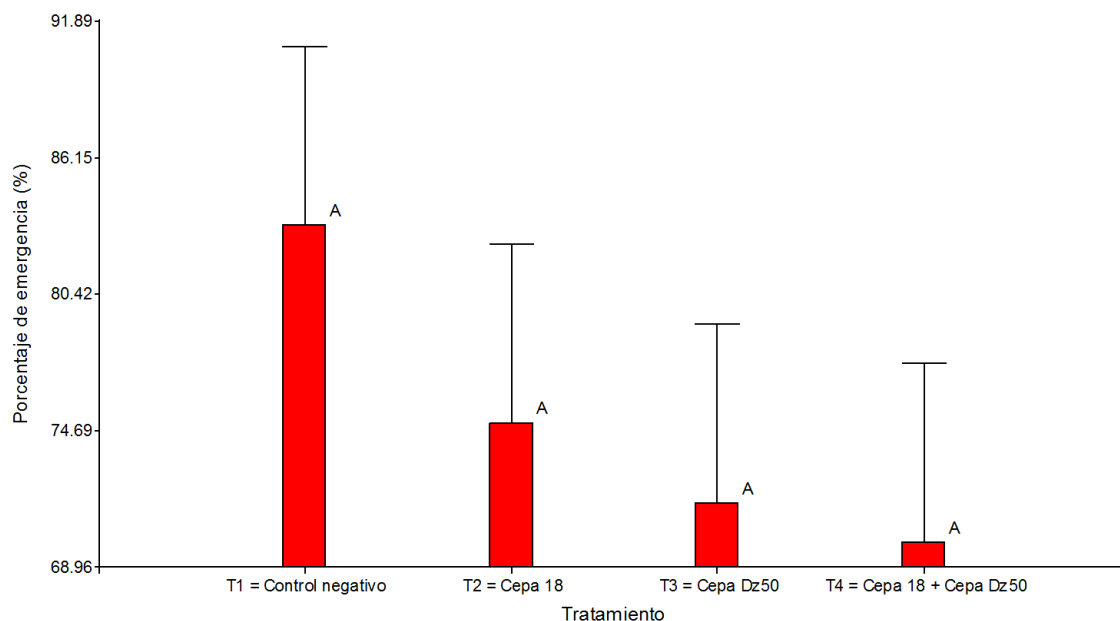
T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para determinar la diferencia porcentual de emergencia de semillas de quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* a nivel de campo abierto en maceta se reportó los datos meteorológicos por SENAMHI, una temperatura mínima de 5.2 °C y una temperatura máxima 15.8 °C, con una humedad relativa de 45% a las 13 horas y con una precipitación de 0.5 L/m<sup>2</sup>; teniendo en cuenta que fueron 10 semillas por cada unidad experimental (maceta) representando el 100 % con relación a las semillas inoculadas y el control negativo (semillas sin inóculo bacteriano), se realizó primero el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba.

En la evaluación del porcentaje de emergencia de las semillas de quinua variedad INIA inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, el estadístico  $F = 0.62$ ,  $GL = 3$ , con el valor de  $P = 0.6078$ , resultó mayor a 0.05 es cual estadísticamente no es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna la cual indica que entre los 4 tratamientos no hubo una diferencia significativa, el cual gráficamente se observa en la **Figura 15**.



**Figura 15.** Comparación de porcentaje de emergencia a nivel de campo, CIP Camacani de la UNA- Puno – 12/11/17.

En la investigación se obtuvo promedios porcentuales de emergencia de las semillas de quinua entre 70 % y 83 % de porcentaje de emergencia, estos resultados fueron mayores a los resultados obtenidos por (Anyaipoma, 2014a) en su investigación del porcentaje de emergencia de maca obteniendo un 2% y 8 % de porcentaje de emergencia, esto debe a la técnica de peletización ya que en esta se utiliza adhesivos para peletizar a la semillas y eso retarda a la germinación, diferente a la técnica de inoculación, por otro lado los resultados obtenidos en esta investigación fueron menores a los resultados obtenidos por Liceta, (2015) en su investigación en la evaluación de porcentaje de emergencia en la quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* obteniendo un 100 % de emergencia con la variedad Inia salcedo, por otro lado cabe resaltar que el mayor porcentaje encontrado es en el T1 se debe a los cambios ambientales que se registró en el lugar de la siembra como es la temperatura, pH, humedad como reporta Anyaipoma (2014), por el cual influyeron en la investigación así también el T1 no tenía una protección contra los cambio climáticos a diferencia de los tratamientos restantes tal como lo reporta en su artículo científico de Glick & Glick (2012),.

Además (Cortés y Rubiano, 2017) menciona que la germinación es la etapa de mayor importancia por la relación directamente con el clima ya que el déficit de humedad, puede incidir en la germinación, debido a que los granos se hinchan y desplazan a los cotiledones

y a la radícula con cierta cantidad de agua también señala que la emergencia ocurre de los 7 a 10 días de la siembra, así también MINAGRI (2017) hace referencia que el cultivo de la quinua entre los años 2005-2012, la producción de quinua creció a una tasa de 4,5% promedio anual, registrando 44 mil toneladas en el año 2012. El aumento de la producción nacional de este grano en este lapso de tiempo se atribuye a la expansión de la superficie cosechada más que una mejora de los rendimientos. En el año 2012, Puno concentró el 68% de la producción nacional, seguido de la región Ayacucho con un 10%. Las regiones como Arequipa, Apurímac, Junín y Ayacucho, consiguieron importantes rendimientos en ese mismo año con niveles superiores respecto al promedio nacional. En el periodo enero-junio de 2013, la producción de quinua aumentó 6,2% con respecto a similar periodo de 2012, debido al incremento de la superficie cosechada en 4,6 mil has más, principalmente en las regiones de Puno, Ayacucho, Junín y Apurímac.

Por otro lado Loredo & Espinosa (2004) en su investigación da a conocer que el cultivo a campo abierto las bacterias de vida libre o asociadas que habitan la rizósfera pueden incitar el aumento del crecimiento de las gramíneas a través de mecanismos de síntesis de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, fijación de nitrógeno, solubilización de nutrientes, producción de sideróforos y control de fitopatógenos del suelo. Los microorganismos más estudiados pertenecen a los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Beijerinckia*, *Pseudomonas* y *Bacillus*; algunos de los cuales sobreviven en condiciones de estrés caso contrario se retarda en desarrollar sus principales funciones y tienden a morir. Es por eso y otros factores ambientales que impidieron el buen desarrollo físico de los tratamientos con cepas Dz50, PQLMT18 y en consorcio a comparación de semillas sin inoculo.

Por otro lado, Vergani & Zúñiga (2018), en su investigación hace referencia que en los suelos de la provincia de Chimborazo (Riobamba – Ecuador), los recuentos de bacterias solubilizadoras de fósforo que oscilaron entre  $4.16 \times 10^8$  y  $5.87 \times 10^8$  UFC/g, como también menciona que encontró un promedio de  $5.5 \times 10^4$  ( $\pm 2.3 \times 10^4$ ) y  $6.9 \times 10^4$  ( $\pm 3.6 \times 10^4$ ) UFC/g de suelo asociadas a la rizósfera de *Baccharis macrantha* y *Viburnum triphyllum* respectivamente por parte de Ávila 2015, por otro lado también hace referencia que Kumar, 2011 realizaron estudios de diversidad microbiana identificando a *B. subtilis* y *B. megaterium* dentro de las poblaciones cultivables de suelos agrícolas, cuya abundancia oscila entre  $10^3$  a  $10^6$  UFC/g de suelo.

Así también Vergani & Zúñiga (2018) en su investigación dio a conocer que la germinación duró 14 días y con una temperatura de 18 °C a comparación de con este experimento que se realizó en 9 días a temperatura ambiente.

#### b) Evaluación de la longitud de tallo de la quinua (*Chenopodium quinoa* Will.)

La evaluación de la longitud de tallo se realizó en 3 fechas después de la siembra a los 50, 108 y 176 días después de la siembra en el CIP Camacani de la UNA – Puno, teniendo en cuenta que la reinoculación se realizó a los 56 días después de la siembra (**Anexo, Figura 28**).

Los resultados de la evaluación de la longitud de tallo a los 50 días después de la siembra realizado bajo el estudio de 4 tratamientos y 6 repeticiones, semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), *Rhizobium sp.* (T3), *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) de forma asociada y (T1) control negativo, así también se consideró los datos meteorológicos reportados por SENAMHI, una temperatura mínima de 4.2 °C y una temperatura máxima 17.8 °C, con una humedad relativa de 62.2% a las 7 horas, humedad relativa de 57.8% a las 13 horas y una humedad relativa de 58.6% a las 19 horas y con una precipitación de 0.5 L/m<sup>2</sup>; se determinó que el mejor tratamiento son las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2) con una media de 25.32 cm de longitud de tallo en contraste con el control negativo (T1) con un promedio de 23.89 cm de longitud de tallo, seguida del tratamiento T4 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*) con 24.68 cm de longitud de tallo y tratamiento (T1) resultado con un promedio menor a los demás tratamientos con un 23.89 cm de longitud de tallo.

**Tabla 6.** Media longitudinal del tallo a los 50 días después de la siembra, CIP Camacani de la UNA – Puno - 23/12/17.

Tratamiento	Repeticiones						Promedio (cm)	D.E	C.V. (%)
	R1*	R2*	R3*	R4*	R5*	R6*			
T1	23.62	24.08	24.32	23.51	23.90	23.90	23.89	0,30	1,24
T2	25.50	25.23	24.88	25.27	25.17	25.87	25.32	0,34	1,32
T3	24.40	23.98	24.00	24.87	25.37	25.48	24.68	0,66	2,68
T4	24.50	24.67	24.27	25.36	25.43	25.23	24.91	0,49	1,98

R1\*, R2\*, R3\*, R4\*, R5\*, R6\* son las 6 repeticiones realizadas por cada tratamiento  
T1: control negativo



T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

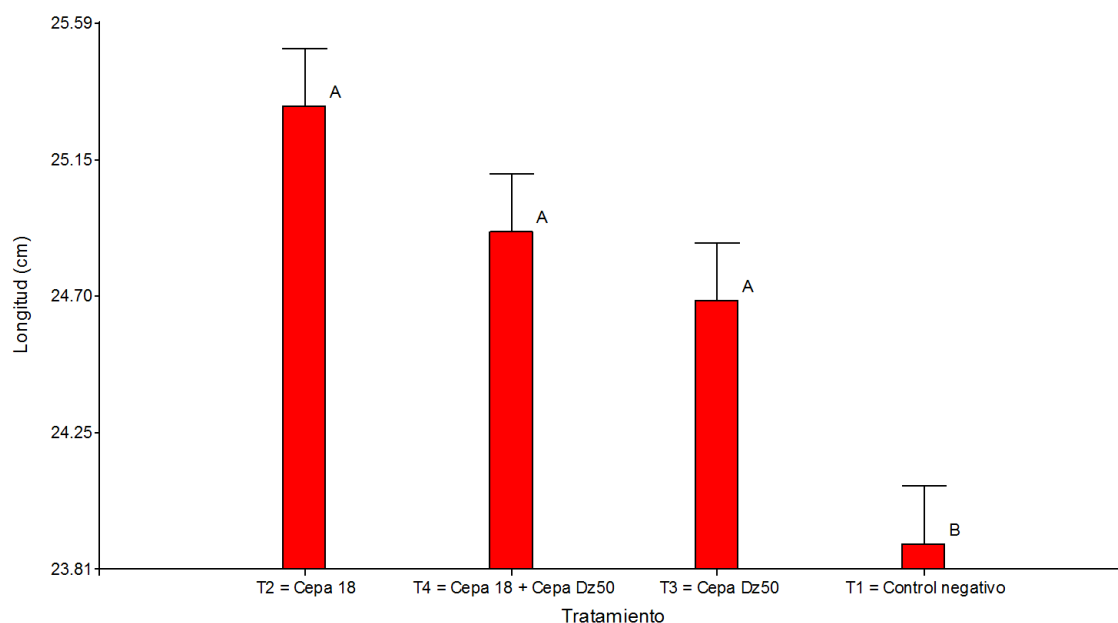
T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para determinar la diferencia de medias longitudinales de tallo de la quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, a los 50 días después de la siembra, se realizó primero el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba y seguidamente la prueba de tukey para observar cuál de los tratamientos es diferente por lo menos uno de los demás.

En la evaluación de la longitud del tallo de la quinua a los 50 días después de la siembra semillas de quinua variedad INIA salcedo inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, el estadístico  $F = 9.90$ ,  $GL = 3$ , con el valor de  $P = 0.0003$ , resultó menor a  $0.05$  el cual estadísticamente es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula, la cual indica que entre los 4 tratamientos si hubo una alta diferencia significativa, el cual gráficamente se observa en la **Figura 16**.

Teniendo en cuenta la prueba estadística de Tukey resulto que las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2), *Rhizobium sp.*(T3) y las semillas inoculadas con ambas cepas de forma asociada (T4) poseen un mejor efecto en el crecimiento longitudinal de la quinua, significativamente diferente con el control negativo (T1) semillas sin inóculo bacteriano, la cual se encuentra ordenada de acuerdo a su media en forma descendente (A, B).



**Figura 16.** Comparación de longitud de tallo de la quinua (cm) a los 50 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/12/17.

El mayor porcentaje encontrado es en el T2 (semilla de quinua inoculada con *Pseudomonas sp.*), esta cepa fue caracterizada fenotípicamente y en su capacidad PGPR se evaluó la producción de ácido indol acético (AIA), con valores de hasta 36.23 $\mu$ g/mL AIA (PS13) y de solubilización de fosfatos bicálcico y tricálcico con una eficiencia de hasta 259% (PS12). También se pudo observar la influencia de la temperatura en el crecimiento de las cepas y sus capacidades PGPR, Las plántulas inoculadas con cepa PS44 (*Pseudomonas*) fueron superiores en altura, en un 26.3% respecto al control en la var. INIA Salcedo (Liceta, 2015), es por ello que influyeron en el tratamiento.

Por otro lado (Mamani, 2018) menciona que el género *Azotobacter* identificado y utilizado en la inoculación de semillas en condiciones de laboratorio, tiene efecto en incrementar influye en la longitud total de las plántulas de quinua obteniéndose valores promedios entre 4.67 cm y 10.33 cm presentando diferencia estadística significativa.

Los resultados de la evaluación de la longitud de tallo a los 108 días después de la siembra en maceta, la evaluación fue realizada bajo el estudio de 4 tratamientos con 6 repeticiones, (T1) control negativo, semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (T3), semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) de

forma asociada, así también se consideró los datos meteorológicos reportados por SENAMHI, una temperatura mínima de 6.4°C mas no se reportó temperatura máxima , con una humedad relativa de 75.4% a las 13horas y con una precipitación de 0.4 L/m<sup>2</sup> , con este estudio se determinó que el mejor tratamiento son las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2) con una media de 54 cm de longitud de tallo en contraste con el control negativo (T1) que obtuvo un promedio de 49 cm de longitud de tallo, seguida del tratamiento T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) con 52 cm de longitud de tallo y el tratamiento T4 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*) resulto con un promedio de 50 cm de longitud de tallo con respecto al control negativo (**Tabla 7**).

**Tabla 7.** Promedio de longitud de tallo de la quinua (cm) a los 108 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 14/02/18.

Tratamiento	Repeticiones						Promedio (cm).	D.E.	C.V. (%)
	R1*	R2*	R3*	R4*	R5*	R6*			
<b>T1</b>	50	49	49	48	50	49	49	0,75	1,53
<b>T2</b>	53	54	54	53	54	54	54	0,52	0,96
<b>T3</b>	52	51	52	53	51	52	52	0,75	1,45
<b>T4</b>	51	50	51	50	50	50	50	0,52	1,03

R1\*, R2\*,R3\*,R4\*, R5\*, R6\* son las 6 repeticiones realizadas por cada tratamiento

T1: control negativo

T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

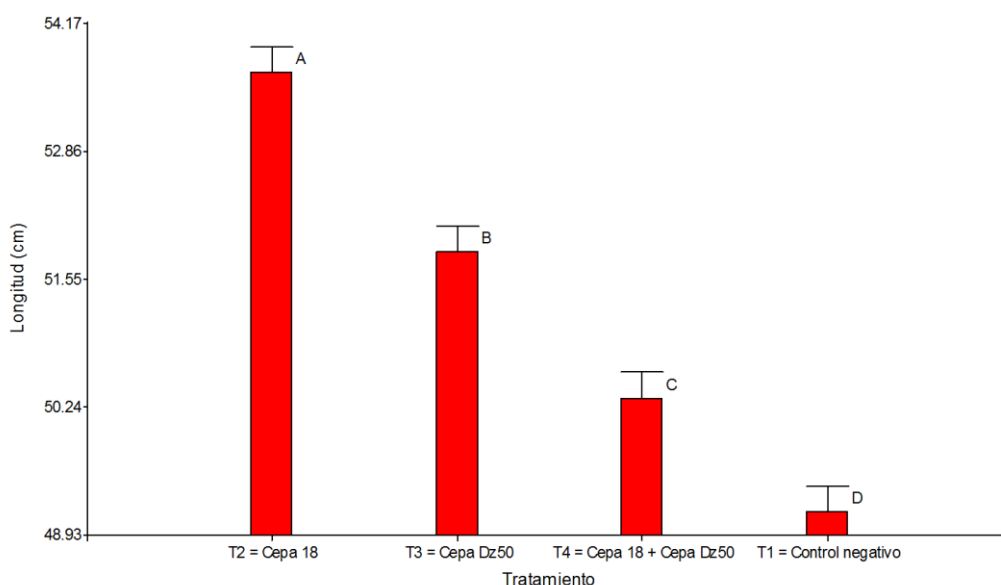
T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para determinar la diferencia de medias longitudinales del tallo de la quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, a los 108 días después de la siembra, se realizó primero el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba y seguidamente la prueba de tukey para observar cuál de los tratamientos es diferente por lo menos uno de los demás.

En la evaluación de la longitud del tallo de la quinua a los 108 días después de la siembra semillas de quinua variedad INIA salcedo inoculadas con *Pseudomonas sp* y *Rhizobium sp.*, el estadístico F = 54.53, GL =3, con el valor de P = 0.0001, resultó menor a 0.05 el cual estadísticamente es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula, la cual indica que entre los 4

tratamientos si hubo una alta diferencia significativa, el cual gráficamente se observa en la **Figura 17**.

Teniendo en cuenta la prueba estadística de Tukey resulto que las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2), *Rhizobium sp.*(T3) y las semillas inoculadas con ambas cepas de forma asociada (T4) poseen un mejor efecto en el crecimiento longitudinal de la quinua, significativamente diferente con el control negativo (T1) semillas sin inóculo bacteriano, la cual se encuentra ordenada de acuerdo a su media en forma descendente (A, B, C, D).



**Figura 17.** Comparación de longitud de tallo de la quinua (cm) a los 108 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 14/02/18.

El mayor porcentaje encontrado es en el T2 se debe a la temperatura, ya que este tratamiento es semillas de quinua inoculada con la cepa PQLMT 18 (C18) y esta es tolerante al estrés por frío tal como lo afirma (Mujica *et al.*, 1974) y coincide con (Choque, 2017) es por ello que influyeron en el tratamiento a comparación de los tratamientos restantes. Además, Mujica *et al.*, (2013), señalan que la temperatura adecuada para la quinua esta alrededor de 15 a 21 C° prosperando adecuadamente además se ha determinado que esta planta posee mecanismos de escape y tolerancia a temperaturas menores pudiendo soportar hasta - 5C°

(León, 2003) y Mujica *et al.*, (2004), coinciden en señalar que la quinua resiste sin problemas temperaturas mínimas de hasta - 5°C por otro lado Gastiazo s/f. menciona que las bajas temperaturas por debajo de 7 de -6° C en las fases críticas como ramificación e inicio

de panojamiento el valor mencionado, se puede considerar como temperatura letal mínima, que por debajo de la cual produce muerte de tejidos en la planta y esta para recuperarse necesita mayor tiempo lo cual acarrea un rendimiento bajo.

Los resultados de la evaluación de la longitud de tallo a los 176 días después de la siembra en maceta, la evaluación fue realizada bajo el estudio de 4 tratamientos con 6 repeticiones, (T1) control negativo, semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (T3), semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) de forma asociada, así también se consideró los datos meteorológicos reportados por SENAMHI, una temperatura mínima de 5°C y una temperatura máxima 15.8 °C, con una humedad relativa de 91% a las 7 horas, humedad relativa de 76.1% a las 13 horas y una humedad relativa de 93.8% a las 19 horas y con una precipitación de 17 L/m<sup>2</sup>; con este estudio se determinó que el mejor tratamiento son las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2) con una media de 82.44 cm de longitud de tallo en contraste con el control negativo (T1) que obtuvo un promedio de 80.49 cm de longitud de tallo, seguida del tratamiento T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) con 80.58 cm de longitud de tallo y el tratamiento T4 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*) resulto con menor promedio de longitud de tallo con un 80.30 cm, en contraste con el control negativo (**Tabla 8**).

**Tabla 8.** Longitud de tallo de la quinua (cm) a los 176 días, CIP Camacani de la UNA-Puno – 23/04/18.

Tratamiento	Repeticiones						Promedio (cm)	D.E. C.V. (%)	
	R1*	R2*	R3*	R4*	R5*	R6*			
<b>T1</b>	80.50	80.00	81.15	80.10	81.80	79.40	80.49	0,86	1,07
<b>T2</b>	82.50	82.45	80.60	83.00	83.45	82.65	82.44	0,98	1,18
<b>T3</b>	80.00	80.70	80.05	80.70	80.90	81.15	80.58	0,46	0,57
<b>T4</b>	79.85	79.95	79.75	79.85	81.10	81.30	80.30	0,70	0,88

R1\*, R2\*,R3\*,R4\*, R5\*, R6\* son las 6 repeticiones realizadas por cada tratamiento

T1: control negativo

T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

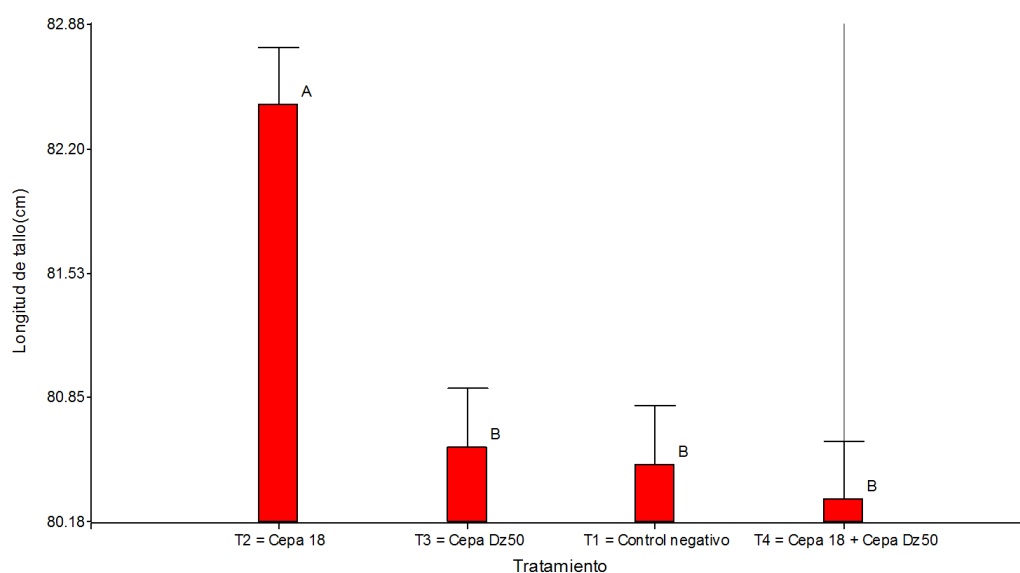
T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para determinar la diferencia de medias longitudinales del tallo de la quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, a los 176 días después de la siembra, se realizó primero el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba y

seguidamente la prueba de tukey para observar cuál de los tratamientos es diferente por lo menos uno de los demás.

En la evaluación de la longitud del tallo de la quinua a los 176 días después de la siembra semillas de quinua variedad INIA salcedo inoculadas con *Pseudomonas sp* y *Rhizobium sp.*, el estadístico  $F = 54.53$ ,  $GL = 3$ , con el valor de  $P = 0.0001$ , resultó menor a 0.05 el cual estadísticamente es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula, la cual indica que entre los 4 tratamientos si hubo una alta diferencia significativa, el cual gráficamente se observa en la **Figura 18**.

Teniendo en cuenta la prueba estadística de Tukey resulto que las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2), poseen un mejor efecto en el crecimiento longitudinal de la quinua, con respecto al control negativo (T1, semillas sin inóculo bacteriano), semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*(T3) y significativamente diferente con las semillas inoculadas con ambas cepas de forma asociada (T4), la cual se encuentra ordenada de acuerdo a su media en forma descendente (A, B).



**Figura 18.** Comparación de longitud de tallo a los 176, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/04/18.

El mayor promedio encontrado es en el T2 se a que este tratamiento, semillas inoculadas con la cepa *Pseudomonas sp.* es conocida por la producción de metabolitos que ayuda en el crecimiento de la planta así también tolerantes al estrés del frío tal como lo mencionan (Antoun & Prévost, 2005b)(Mamani, 2018) (Goita, 2014a).

Por otro lado estas bacterias son conocidas como PGPR promotoras de crecimiento y por ende tiene la capacidad de solubilizar el fosfato (Liceta, 2015)(Roquigny *et al.*, 2017), como en un estudio realizado por Llanos (2017), Determinó el efecto de las bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSF) del género *Bacillus* aislados de suelos de tres comunidades de la provincia de El Collao – Puno, en la germinación y crecimiento de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en condiciones de invernadero. Las BSF se inocularon a las concentraciones de  $4.56 \times 10^5$  UFC/ml,  $1.96 \times 10^4$  UFC/ ml y  $0.56 \times 10^3$  UFC/ml que correspondieron a los tratamientos T1, T2 Y T3 respectivamente, y Tc correspondió a semillas sin ningún tratamiento. Los resultados de la carga bacteriana solubilizadora de fosfato en los suelos de las tres comunidades presentaron diferencia estadística, siendo  $2,40 \times 10^3$  UFC/g en la comunidad Sankuta,  $1.57 \times 10^3$  UFC/g en la comunidad Sarapi Arroyo y  $1,23 \times 10^3$  UFC/g en la comunidad Pharata. En la evaluación de los parámetros biométricos en la longitud de la planta, diámetro del tallo y peso seco de la planta y raíz, no hubo diferencia estadística entre T1, T2 y T3, aunque si respecto al control.

#### **a. Evaluación del peso fresco aéreo de la quinua (*Chenopodium quinoa* Will.)**

El estudio del peso fresco aéreo se realizó a nivel de campo en 3 fechas como es a los 50, 108, 176 días después de la siembra, la evaluación fué bajo el estudio de 4 tratamiento con 6 repeticiones T1: Control negativo, T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (Cepa 18), T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (cepa Dz50) y el T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma asociada (cepa 18 y + cepa Dz50).

#### **Evaluación del peso fresco aéreo a los 50 días**

Los resultados de la evaluación del peso fresco a los 50 días después de la siembra en maceta, la evaluación fue realizada bajo el estudio de 4 tratamientos con 6 repeticiones, (T1) control negativo, semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (T3), semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) de forma

asociada, , así también se consideró los datos meteorológicos reportados por SENAMHI, una temperatura mínima de 4.2 °C y una temperatura máxima 17.8 °C, con una humedad relativa de 62.2% a las 7 horas, humedad relativa de 57.8% a las 13 horas y una humedad relativa de 58.6% a las 19 horas y con una precipitación de 0.5 L/m<sup>2</sup>, se determinó que el mejor tratamiento son las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2) con una media de 17.34 g del peso fresco aéreo de la quinua en contraste con el control negativo (T1) que obtuvo un promedio de 16.51 g, seguida del tratamiento T4 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*) con 16.23 g y el tratamiento T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) resultó con menor promedio de peso fresco aéreo de la quinua, en contraste con el control negativo (**Tabla 9**).

**Tabla 9.** Peso fresco aéreo (g) de la quinua a los 50 días, CIP Camacani de la UNA-Puno – 23/12/17.

Tratamiento	Repeticiones						Promedio (g)	D.E.	C.V. (%)
	R1*	R2*	R3*	R4*	R5*	R6*			
<b>T1</b>	17.13	17.51	15.83	16.05	16.94	15.58	16.51	0.79	4.78
<b>T2</b>	18.32	17.64	17.25	17.03	17.43	16.39	17.34	0.64	3.71
<b>T3</b>	15.28	15.70	15.67	15.56	15.41	15.91	15.59	0.22	1.44
<b>T4</b>	16.35	16.32	16.32	16.27	16.58	15.55	16.23	0.35	2.16

R1\*, R2\*, R3\*, R4\*, R5\*, R6\* son las 6 repeticiones realizadas por cada tratamiento

T1: control negativo

T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

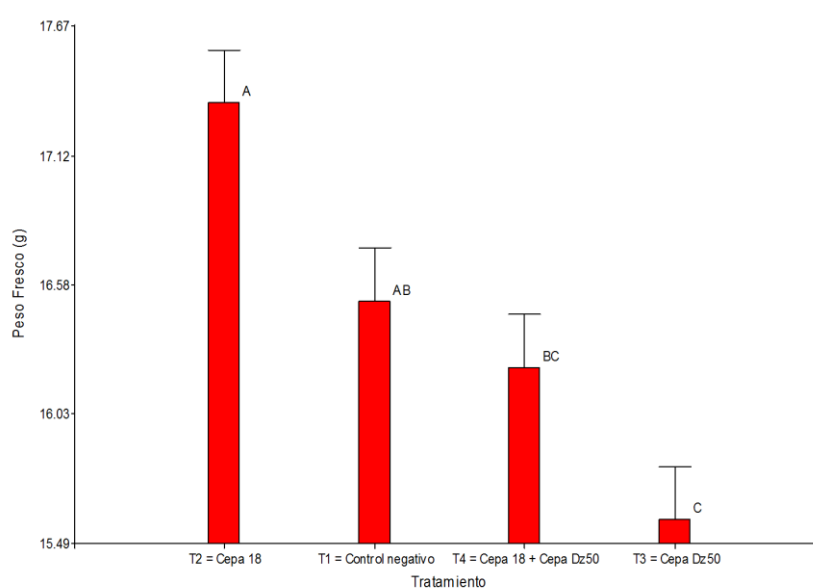
Para determinar el peso fresco de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada, se realizó primero el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba y si al menos una de las concentraciones es diferente a los demás; que posteriormente se corroboró con la prueba de contraste de Tukey.

En la evaluación del peso fresco de la quinua a los 50 días después de la siembra de semillas de quinua variedad INIA salcedo inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada en contraste con el control negativo, el estadístico F = 10.51, GL = 3, con el valor de P = 0.0002, resultó menor a 0.05 el cual estadísticamente es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis alterna y se



rechaza la hipótesis nula, la cual indica que entre los 4 tratamientos si hubo una alta diferencia significativa, el cual gráficamente se observa en la **Figura 19**.

El análisis de varianza (ANOVA) determinó que existe diferencia significativa en todos los tratamientos y en la prueba estadística de Tukey se determinó que los promedios de los pesos frescos (g) de la quinua fueron estadísticamente significativa con respecto al control negativo (T1), con un grado de significancia  $\alpha=0.05$ , demostrándonos que si existe diferencia significativa entre los tratamientos y control negativo. La Prueba estadística de Tukey indica que los promedios con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).



**Figura 19.** Comparación de peso fresco aéreo (g) a los 50 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/12/17.

El mayor promedio encontrado es en el T2 se debe este tratamiento es con la bacteria *Pseudomona sp.* biodegradadoras, controladoras biológicas y PGPR. Dentro de los beneficiosos que brinda alguna de las cepas de este género para el desarrollo de las plantas se encuentran el aumento de la toma de agua y nutrientes, la producción y segregación de reguladores de crecimiento de plantas como auxinas, giberelinas y citoquininas, biocontrol de patógenos (Anyaipoma, 2014)

Por otro lado (Sanchez, 2011) menciona que los factores que influyen en el crecimiento he incremento de la masa de la planta del tomate son la temperatura, humedad, luminosidad y la

calidad del suelo así también menciona que una de las ventajas que ayudó a que el cultivo de tomate fuera de buena masa es la producción bajo invernadero la cual tiene grandes ventajas que lo hacen atractivo como negocio, la protección contra los efectos dañinos de la lluvia, el viento y el granizo; la preservación de la estructura del suelo la posibilidad de manejar el microclima interno; la esta metodología en este trabajo no se dio más que en campo abierto.

Así también (Orozco & Martínez, 2009), estudió en condiciones de invernadero, la interacción entre el hongo ectomicorrizico *Suillus luteus* y los microorganismos aislados en *P. patula*, como *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus macerans*, *Enterobacter agglomerans* y *Pseudomonas sp.*, la inoculación con bacterias fijadoras de nitrógeno estimulo el crecimiento longitudinal y la nutrición nitrogenada de *P. patula*.

### **Evaluación del peso fresco a los 108 días.**

Los resultados de la evaluación del peso fresco a los 108 días después de la siembra en maceta, la evaluación fue realizada bajo el estudio de 4 tratamientos con 6 repeticiones, (T1) control negativo, semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (T3), semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) de forma asociada, así también se consideró los datos meteorológicos reportados por SENAMHI, una temperatura mínima de 6.4°C mas no se reportó temperatura máxima , con una humedad relativa de 75.4% a las 13horas y con una precipitación de 0.4 L/m<sup>2</sup> , se determinó que el mejor tratamiento son las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2) con una media de 79.09 g del peso fresco aéreo de la quinua en contraste con el control negativo (T1) que obtuvo un promedio de 63.27 g, seguida del tratamiento T4 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*) con 77.84 g y el tratamiento T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) resulto con un promedio de 73.52 g de peso fresco aéreo de la quinua, en contraste con el control negativo (**Tabla 10**).

**Tabla 10.** Peso fresco aéreo (g) de la quinua a los 108 días, CIP Camacani de la UNA-  
Puno – 14/02/18.

Tratamiento	Repeticiones						Promedio (g)	D.E	C.V(%)
	R1*	R2*	R3*	R4*	R5*	R6*			
T1	63.73	63.70	63.14	63.56	63.82	61.68	63.27	0.82	1.29
T2	79.77	80.38	78.75	79.04	77.32	79.29	79.09	1.04	1.32
T3	76.10	77.35	72.80	72.04	71.88	70.94	73.52	2.58	3.51
T4	74.91	78.81	77.56	78.99	78.94	77.81	77.84	1.56	2.00

R1\*, R2\*, R3\*, R4\*, R5\*, R6\* son las 6 repeticiones realizadas por cada tratamiento

T1: control negativo

T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

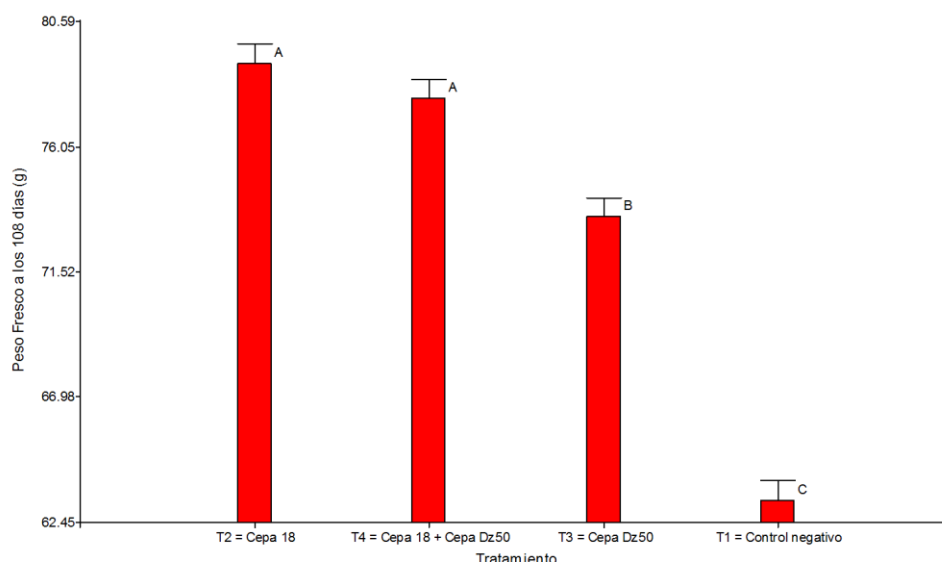
T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para determinar el peso fresco de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada, se realizó primero el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba y si al menos una de las concentraciones es diferente a los demás; que posteriormente se corroboró con la prueba de contraste de Tukey..

En la evaluación del peso fresco de la quinua a los 108 días después de la siembra semillas de quinua variedad INIA salcedo inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada en contraste con el control negativo, el estadístico  $F = 114.02$ ,  $GL = 3$ , con el valor de  $P = 0.0001$ , resultó menor a 0.05 el cual estadísticamente es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula, la cual indica que entre los 4 tratamientos si hubo una alta diferencia significativa, el cual gráficamente se observa en la **Figura 20**.

El análisis de varianza (ANOVA) determinó que existe diferencia significativa en todos los tratamientos y en la Prueba estadística de Tukey se determinó que los promedios de los pesos frescos (g) de la quinua fueron estadísticamente significativa con respecto al control negativo (T1), con un grado de significancia  $\alpha = 0.05$ , demostrándonos que si existe diferencia significativa entre los tratamientos y control negativo. La Prueba estadística de Tukey indica que los promedios con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).



**Figura 20.** Comparación de peso fresco (g) de la quinua en la fase, CIP Camacani de la UNA- Puno – 14/02/18.

El mayor promedio es el T2 esto se debe a que esta bacteria es conocida como promotora de crecimiento por la producción de metabolitos que ayudan a la planta para poder metabolizar los nutrientes que se encuentra en el suelo así también ayudan a la solubilización de fosfato (Eckford, *et al.*, 2002), en cualquier tipo de suelo que este vista para cultivo tiene que ser preparada con los N, P, K son los elementos químicos necesarios para la buena producción de cultivos y es por ello que la utilización de microorganismos capaces de producir nutrientes para la planta (LLanos, 2017) (Bojanic, 2011).

Así también Bécquer *et al.* (2015) menciona que se debe a la producción de AIA, en cuanto al género *Pseudomonas*, este es un importante componente en la comunidad de la rizósfera y usualmente juega un rol importante en la promoción del desarrollo de las plantas. Esto se debe a su versatilidad metabólica, la cual hace posible desplegar un conjunto de PGP psicrotolerantes provenientes de esta especie, evidenciaron concentraciones de AIA de  $6.74 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$  y  $12.58 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$  a  $4^{\circ}\text{C}$  y  $15^{\circ}\text{C}$  respectivamente para *Pseudomonas lurida*. por su parte reportan la capacidad de producir AIA en cepas de este género: PGERs17 y NARs9 bajo temperaturas de  $4^{\circ}\text{C}$  ( $1.4$  y  $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ),  $15^{\circ}\text{C}$  ( $4.2$  y  $13 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) y  $28^{\circ}\text{C}$  ( $13.2$  y  $21 \mu\text{g}/\text{ml}$ ), reportaron dos cepas del género *Pseudomonas* aisladas de los campos experimentales de Chungbuk capaces de producir AIA a  $5^{\circ}\text{C}$  en un rango de  $0.3$  a  $16.39 \mu\text{g}/\text{ml}$ . Si bien se evidenció la capacidad de producir AIA a bajas temperaturas, todos los estudios presentados demostraron que la mayor producción se observó en temperaturas

dentro del rango mesofílico (incluyendo el presente estudio). Los resultados obtenidos son directamente comparables con los resultados aquí presentados.

### Evaluación del peso fresco (g) aéreo de la quinua a los 176 días.

Los resultados de la evaluación del peso fresco aéreo a los 176 días después de la siembra en maceta, la evaluación fue realizada bajo el estudio de 4 tratamientos con 6 repeticiones, (T1) control negativo, semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (T3), semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) de forma asociada, así también se consideró los datos meteorológicos reportados por SENAMHI, una temperatura mínima de 5°C y una temperatura máxima 15.8 °C, con una humedad relativa de 91% a las 7 horas, humedad relativa de 76.1% a las 13 horas y una humedad relativa de 93.8% a las 19 horas y con una precipitación de 17 L/m<sup>2</sup>, se determinó que el mejor tratamiento son las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2) con una media de 163.54 g del peso fresco aéreo de la quinua en contraste con el control negativo (T1) que obtuvo un promedio menor a todos con una media de 145.77 g, seguida del tratamiento T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) con 159.22 g y el tratamiento T4 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*) resulto con un promedio de 155.42 g de peso fresco aéreo de la quinua, en contraste con el control negativo (**Tabla 11**).

**Tabla 11.** Peso fresco aéreo (g) de la quinua a los 176 días, CIP Camacani de la UNA-Puno – 23/04/18.

Tratamiento	Repeticiones						Promedio (g)	D.E.	C.V. (%)
	R1*	R2*	R3*	R4*	R5*	R6*			
T1	145.92	144.40	146.62	145.54	146.02	146.15	145.77	0.76	0.52
T2	163.02	163.74	158.59	168.67	163.71	163.51	163.54	3.20	1.96
T3	161.16	160.18	159.75	162.14	153.57	158.50	159.22	3.03	1.90
T4	156.54	155.53	151.88	155.58	156.36	156.63	155.42	1.80	1.16

R1\*, R2\*,R3\*,R4\*, R5\*, R6\* son las 6 repeticiones realizadas por cada tratamiento

T1: control negativo

T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

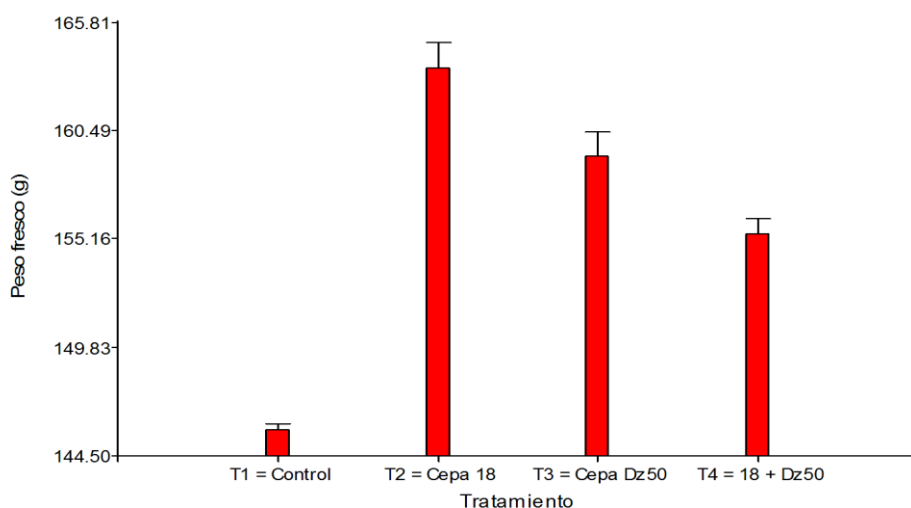
T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para determinar el peso fresco de la quinua (*Chenopodium quinoa*Willd.) inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada, se realizó primero el

análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba y si al menos una de las concentraciones es diferente a los demás; que posteriormente se corroboró con la prueba de contraste de Tukey.

En la evaluación del peso fresco de la quinua a los 176 días después de la siembra semillas de quinua variedad INIA salcedo inoculadas con *Pseudomonas sp* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada en contraste con el control negativo, el estadístico  $F = 59.27$ ,  $GL = 3$ , con el valor de  $P = 0.0001$ , resultó menor a 0.05 el cual estadísticamente es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula, la cual indica que entre los 4 tratamientos si hubo una alta diferencia significativa, **Figura 21**.

El análisis de varianza (ANOVA) determinó que existe diferencia significativa en todos los tratamientos y en la Prueba estadística de Tukey se determinó que los promedios de los pesos frescos (g) de la quinua fueron estadísticamente significativa con respecto al control negativo (T1), con un grado de significancia  $\alpha=0.05$ , demostrándonos que si existe diferencia significativa entre los tratamientos y control negativo. La Prueba estadística de Tukey indica que las medias con letras en común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).



**Figura 21.** Comparación de peso fresco (g) aéreo a los 176 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/04/18.

El mayor promedio es el T2 se debe a la concentración del componente bacteriano del suelo es importante y es por ello que es muy bueno para la salud de los ecosistemas, el empleo de

cepas de microorganismos con un alto potencial de acción sobre el incremento del crecimiento y desarrollo de las plantas y el estudio de la diversidad biológica de sus patógenos son factores clave en su control (Ogata & Zúñiga, 2005).

Es por ello que en este estudio se reinóculo con las cepas de *Pseudomonas sp.* y *Rizhobium sp.* en el cultivo de la quinua capaces de promover el crecimiento de la quinua (Matos y Zuñiga, 2002) y en una investigación realizada por (Vergani & Zúñiga, 2018) menciona que utilizó la técnica de peletización con tres distintas cepas (C32, DZ50 y AC7) en maca (*Lepidium meyenii*) en donde el peso seco de la parte aérea, encontrándose que tanto en la germinación como en la emergencia los porcentajes fueron mayores que los no peletizados.

### **Evaluación del peso seco en el crecimiento de la quinua**

El estudio del peso seco aéreo se realizó a nivel de campo en tres oportunidades para evaluar el peso seco aéreo de la quinua, la evaluación fue bajo el estudio de 4 tratamiento con 6 repeticiones T1: tratamiento control negativo, T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (Cepa 18), T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (cepa Dz50) y el T4: semilla inoculadas de forma asociada cepa 18 y la cepa Dz50 y se da a conocer los siguiente:

### **Evaluación del peso seco (g) aéreo de la quinua a los 50 días.**

Los resultados de la evaluación del peso seco a los 50 días después de la siembra en maceta, la evaluación fue realizada bajo el estudio de 4 tratamientos con 6 repeticiones, (T1) control negativo, semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (T3), semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) de forma asociada, así también se consideró los datos meteorológicos reportados por SENAMHI, una temperatura mínima de 4.2 °C y una temperatura máxima 17.8 °C, con una humedad relativa de 62.2% a las 7 horas, humedad relativa de 57.8% a las 13 horas y una humedad relativa de 58.6% a las 19 horas y con una precipitación de 0.5 L/m<sup>2</sup> determinó que el mejor tratamiento son las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2) con una media de 8.21 g del peso seco aéreo de la quinua en contraste con el control negativo (T1) que obtuvo un promedio menor al tratamiento dos con 7.94 g pero mayor que el T4 (semillas inoculadas con Cepa 18 y Cepa

Dz50) con 7.78 g y el T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) con 7.15 g, en contraste con el control negativo (**Tabla 12**).

**Tabla 12.** Peso seco aéreo (g) de la quinua a los 50 días, CIP Camacani de la UNA-Puno – 23/12/17.

Tratamiento	Repeticiones						Promedio (g)	D.E.	C.V. (%)
	R1*	R2*	R3*	R4*	R5*	R6*			
<b>T1</b>	7.86	7.82	7.88	7.52	7.98	10.21	8.21	0.99	12.07
<b>T2</b>	8.51	8.54	8.33	7.98	7.84	6.43	7.94	0.79	9.96
<b>T3</b>	7.34	6.75	7.25	7.61	7.03	6.93	7.15	0.31	4.33
<b>T4</b>	8.02	8.10	8.19	7.12	8.18	7.07	7.78	0.53	6.87

R1\*, R2\*, R3\*, R4\*, R5\*, R6\* son las 6 repeticiones realizadas por cada tratamiento

T1: control negativo

T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

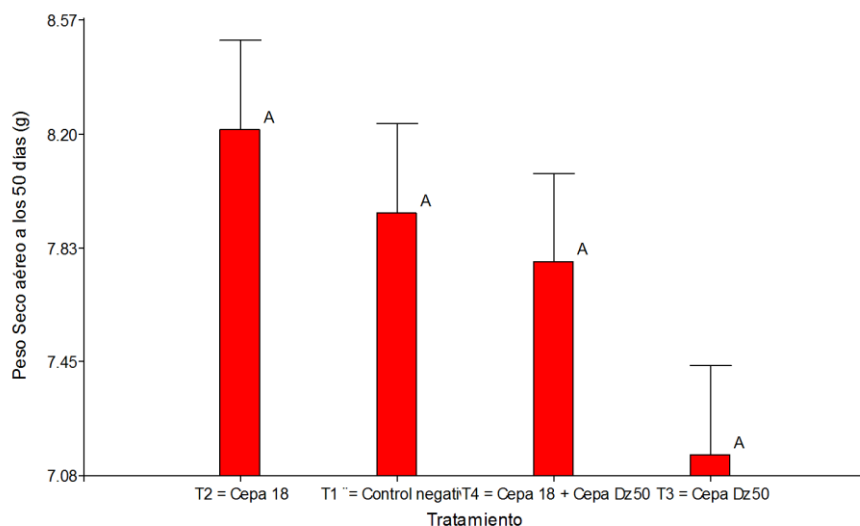
T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para determinar el peso seco de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada, se realizó primero el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba.

En la evaluación del peso seco de la quinua a los 50 días después de la siembra semillas de quinua variedad INIA salcedo inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada en contraste con el control negativo, el estadístico  $F = 2.44$ ,  $GL = 3$ , con el valor de  $P = 0.0947$ , resultó mayor a 0.05 el cual estadísticamente no es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna, la cual indica que entre los 4 tratamientos no hubo una diferencia significativa, el cual gráficamente se observa en la **Figura 22**.





**Figura 22.** Comparación de peso seco (g) a los 50 días, CIP Camacani de la UNA-Puno – 23/12/17.

El mayor promedio es el T1 se debe a que la planta de la quinua en este tratamiento sin inóculo es por la numerosa ramificación que presentaba, así como en otra investigación realizada por (Anyaipoma, 2014a) con respecto a la evolución del peso seco en la quinua, menciona que en el día 7 el peso seco fue significativamente mayor ( $P = 0,0003$ ,  $P = 0,015$ ) que el control en  $0.0002$  g tanto en la raíz como en la parte aérea.

Por otro lado Gutiérrez (2013), indica que al evaluar el efecto de la inoculación con bacterias 127 diazótrofes seleccionadas en dos variedades de maíz (PAU871 y NK940), 128 determinaron 8 cepas en estudio presentaron capacidad de producir celulasas y 129 pectinasas y también de inhibir el crecimiento del hongo fitopatógeno *Fusarium* 130 *oxysporum in vitro*. Los ensayos de inoculación demostraron que existe especificidad 131 en la interacción cepa - variedad. La variedad de maíz PAU871 presentó mayor 132 respuesta a la inoculación que NK940. La inoculación con la cepa 10R *Raoultella* 133 *terrigena* produjo un aumento significativo en la biomasa aérea de las plantas de 134 maíz tanto en condiciones gnotobióticas como en macetas con suelo. La inoculación 135 con los diazótrofes en estudio produjo cambios en el número de diazótrofes 136 rizosféricos pero no en el número de endófitos de raíces. La técnica de T-RFLP 137 mostró que en la variedad PAU871, la inoculación con la cepa 10R produjo cambios 138 en la estructura de la comunidad de diazótrofes endófitos, mientras que las 139 comunidades de diazótrofes rizosféricos de plantas inoculadas y controles 140 presentaron elevada similitud entre ellas.

Así también en una investigación realizada por (Anyaipoma, 2014) hace referencia que el análisis de peso seco en la maca no existió diferencias significativas en el peso seco de las plántulas inoculadas con la *Pseudomonas sp.* que expresaba el gen *gusA* y las *Pseudomonas sp.* silvestre (Ps42), por otro lado, el peso seco de las raíces del tratamiento con cepa transformada fue significativamente mayor al tratamiento control en 0.0002 en los 3, 7 y 15 días y 0.0001 a los 28 días post-inoculación. En cuanto al peso seco aéreo en los días 3 y 7 el control fue superado en 0.000021 y 0.00022 respectivamente por el tratamiento con la cepa transformada.

Es por ello que el uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) adquiere cada vez más importancia tanto como biofertilizantes y como controladores de fitopatógenos en diferentes cultivos. *Pseudomonas* al igual que *Bacillus* son grupos predominantes de bacterias en los suelos agrícolas, presentan capacidad PGPR y han sido utilizadas como inoculantes para diversos cultivos tales como trigo (De Freitas & Germida, 1992), papa (Frommel *et al.*, 1993; Kloeper *et al.*, 1989), tomate (Hall *et al.*, 1996) y trébol (Ortiz, 2013). Dado que las rizobacterias pueden encontrarse asociadas a muchos tipos de plantas y en diversos ambientes, se plantea que su uso podría favorecer el desarrollo del cultivo de quinua (Liceta, 2015)

### **Evaluación del peso seco (g) aéreo de la quinua a los 108 días.**

Los resultados de la evaluación del peso seco a los 108 días después de la siembra en maceta, la evaluación fue realizada bajo el estudio de 4 tratamientos con 6 repeticiones, (T1) control negativo, semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (T3), semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) de forma asociada, así también se consideró los datos meteorológicos reportados por SENAMHI, una temperatura mínima de 6.4°C mas no se reportó temperatura máxima , con una humedad relativa de 75.4% a las 13horas y con una precipitación de 0.4 L/m<sup>2</sup> , se determinó que el mejor tratamiento son las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2) con una media de 19.71 g del peso seco aéreo de la quinua en contraste con el control negativo (T1) que obtuvo un promedio menor a todos los tratamientos con 14.84 g, seguida del tratamiento T4 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*) con 18.34 g y el tratamiento T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) resulto con un promedio de 17.98 g de peso seco aéreo de la quinua, en contraste con el control negativo (**Tabla 13**).

**Tabla 13.** Peso seco aéreo (g) de la quinua a los 108 días, CIP Camacani de la UNA-  
Puno – 14/02/18.

Tratamiento	Repeticiones						Promedio (g)	D.E.	C.V. (%)
	R1*	R2*	R3*	R4*	R5*	R6*			
T1	16.34	15.23	15.74	14.63	14.11	12.99	14.84	1.20	8.09
T2	20.41	20.70	19.76	19.37	18.24	19.80	19.71	0.87	4.40
T3	19.74	19.04	18.88	16.67	16.63	16.95	17.98	1.39	7.72
T4	18.85	19.25	19.22	17.64	17.91	17.14	18.34	0.89	4.86

R1\*, R2\*, R3\*, R4\*, R5\*, R6\* son las 6 repeticiones realizadas por cada tratamiento

T1: control negativo

T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

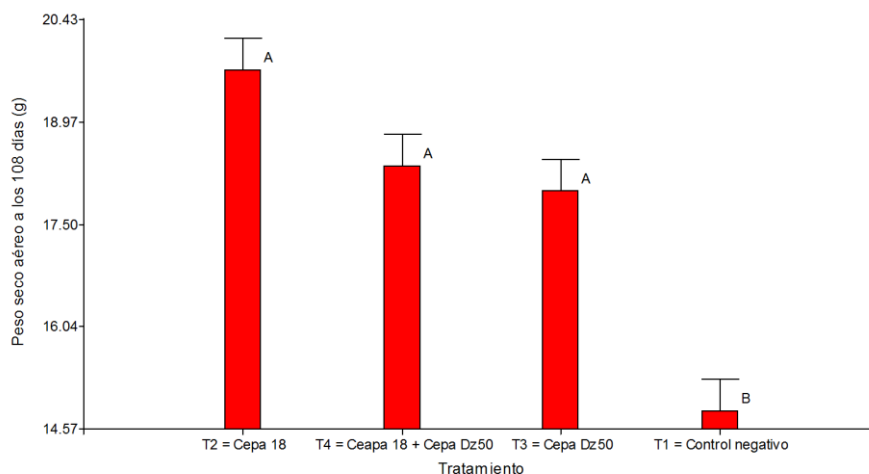
T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para determinar el peso seco de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada, se realizó primero el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba.

En la evaluación del peso seco de la quinua a los 108 días después de la siembra semillas de quinua variedad INIA salcedo inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada en contraste con el control negativo, el estadístico  $F = 20.70$ ,  $GL = 3$ , con el valor de  $P = 0.0001$ , resultó menor a 0.05 el cual estadísticamente es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula, la cual indica que entre los 4 tratamientos si hubo una alta diferencia significativa, el cual gráficamente se observa en la **Figura 23**.

El análisis de varianza (ANOVA) determinó que existe diferencia significativa en todos los tratamientos y en la Prueba estadística de Tukey se determinó que los promedios de los pesos frescos (g) de la quinua fueron estadísticamente significativa con respecto al control negativo (T1), con un grado de significancia  $\alpha = 0.05$ , demostrándonos que si existe diferencia significativa entre los tratamientos y control negativo. La Prueba estadística de Tukey indica que las medias con letras en común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )



**Figura 23.** Comparación peso seco (g) aéreo a los 108 días, CIP Camacani de la UNA-Puno – 14/02/18.

El mayor promedio es el T2 se debe a la numerosa ramificación y a la voluminosidad que obtuvo hasta llegar a la madures fisiológica de la planta con la ayuda de microbiológica de *Pseudomona sp.*, el peso seco es el resultado de la eliminación de agua de la planta, además puede diferir en en la numerosa ramificación, grosor y voluminosidad de la planta con actividad agua, es por ello que tiene que ver mucho el crecimiento de la planta para la obtención del peso seco y así como Anyaipoma (2014) en su investigación menciona que la evaluación de la radícula de la planta de la maca inoculada con *Pseudomonas sp.* es de real importancia para el buen engrosamiento y longitud de la planta de la quinua, observó con un microscopio de luz mostraron que 3 días post inoculación las bacterias colonizaron el cuello y el ápice inferior de la raíz. Por otro lado en el día 7 se observó una mayor asociación de la bacteria. Asimismo, apareció un biofilm a partir de ese día coincidiendo esto, con estudios realizados en *Pseudomonas sp.* asociadas a cultivos de papa.

Así como lo menciona (Roquigny *et al.*, 2017) el crecimiento de las plantas, la emergencia de las semillas o la mejora de los rendimientos de los cultivos y, a menudo, se denominan biofertilizantes. (Glick *et al.*, 1999). El segundo grupo se conoce como biocontrol que son capaces de influir indirectamente en el crecimiento de las plantas mediante la reducción de la presión negativa que los patógenos de las plantas ejercen sobre el crecimiento y desarrollo de la planta.

### Evaluación del peso seco (g) aéreo de la quinua a los 176 días.

Los resultados de la evaluación del peso seco a los 176 días después de la siembra en maceta, la evaluación fue realizada bajo el estudio de 4 tratamientos con 6 repeticiones, (T1) control negativo, semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (T3), semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) de forma asociada, así también se consideró los datos meteorológicos reportados por SENAMHI, una temperatura mínima de 5°C y una temperatura máxima 15.8 °C, con una humedad relativa de 91% a las 7 horas, humedad relativa de 76.1% a las 13 horas y una humedad relativa de 93.8% a las 19 horas y con una precipitación de 17 L/m<sup>2</sup>, se determinó que el mejor tratamiento son las semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*(T2) con una media de 82.86 g del peso seco aéreo de la quinua en contraste con el control negativo (T1) que obtuvo un promedio menor a todos los tratamientos con 80.83 g, seguida del tratamiento T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) con 81.08 g y el tratamiento T4 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*) resulto con un promedio de 80.91 g de peso seco aéreo de la quinua, en contraste con el control negativo (**Tabla 14**).

**Tabla 14.** Peso seco aéreo (g) de la quinua a los 176 días, CIP Camacani de la UNA-Puno – 23/04/18.

Tratamiento	Repeticiones						Promedio (g)	D.E.	C.V. (%)
	R1*	R2*	R3*	R4*	R5*	R6*			
<b>T1</b>	81.10	80.33	80.72	80.28	81.16	81.40	80.83	0.46	0.57
<b>T2</b>	82.46	83.56	81.18	82.86	83.62	83.51	82.86	0.95	1.14
<b>T3</b>	85.68	85.55	82.19	81.44	69.10	82.50	81.08	6.13	7.56
<b>T4</b>	80.70	80.98	80.83	81.01	80.83	81.13	80.91	0.16	0.19

R1\*, R2\*,R3\*,R4\*, R5\*, R6\* son las 6 repeticiones realizadas por cada tratamiento

T1: control negativo

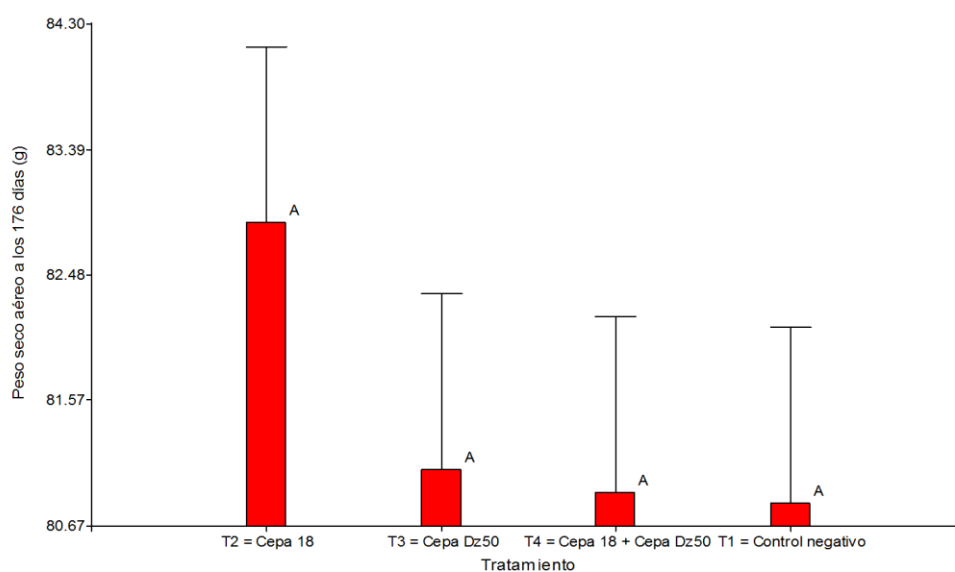
T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para determinar el peso seco de la quinua (*Chenopodium quinoa*Willd.) inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada, se realizó primero el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba.

En la evaluación del peso seco aéreo de la quinua a los 176 días después de la siembra semillas de quinua variedad INIA salcedo inoculadas con *Pseudomonas sp* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada en contraste con el control negativo, el estadístico  $F = 0.58$ ,  $GL = 3$ , con el valor de  $P = 0.6349$ , resultó mayor a  $0.05$  el cual estadísticamente no es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna, la cual indica que entre los 4 tratamientos no hubo una diferencia significativa, el cual gráficamente se observa en la **Figura 24**.



**Figura 24.** Comparación de peso seco (g) aéreo de la quinua a los 176 días, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/04/18.

El mayor promedio es el T2 se debe a múltiples factores acumulados desde la primera fase como es el de la inoculación de la semilla de quinua con *Pseudomonas sp.* este género de bacterias promotoras de crecimiento influyeron en el normal desarrollo de la planta (Eckford, R.; Cook, F.; Saul, D.; Aislabie, J. y Foght, 2002), así también influyó la temperatura como es la resistencia al estrés del frío (Ramos, 2007) así también como es la protección contra los cambios climáticos como la cubierta o en invernadero (Bécquer *et al.*, 2015). Como también la influencia del pH, la acidez, la calidad del suelo y los cambios climáticos (Mujica *et al.*, 2013)(Llanos, 2017).

### Evaluación del peso seco (g) de la semilla de la quinua

El experimento realizado en esta investigación fue con el fin dar a conocer la eficiencia de las bacterias de *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* como promotoras de crecimiento vegetal (PGPR), siendo la expresión máxima de estos microorganismos en la semilla de la quinua, obteniendo como resultado final del estudio el peso seco de semillas de quinua (**Anexo, Figura 31**).

Los resultados de la evaluación del peso seco de la semilla a los 176 días después de la siembra en maceta a campo libre, la evaluación fue realizada bajo el estudio de 4 tratamientos con 6 repeticiones, (T1) control negativo, semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* (T2), semillas inoculadas con *Rhizobium sp.* (T3), semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* (T4) de forma asociada, determinó que el mejor tratamiento en expresar el peso seco de la semillas fue el T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) con 39.62 g, seguido del T2 (semilla inoculadas con *Pseudomonas sp.*) con un media de 37.50 g, así también el T4 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*) que obtuvo un promedio de 35.72 g, en contraste con el control negativo (T1) que ha sido el tratamiento con menor promedio 33.97 g, en la evaluación del peso seco de la semilla de quinua (**Tabla 15**).

**Tabla 15.** Peso seco (g) de la semilla de la quinua, CIP Camacani de la UNA- Puno – 23/04/18.

Tratamiento	Repeticiones						Promedio (g)	D.E.	C.V. (%)
	R1*	R2*	R3*	R4*	R5*	R6*			
<b>T1</b>	36.28	37.79	30.30	31.31	33.82	34.33	33.97	2.85	8.39
<b>T2</b>	38.96	37.66	36.53	35.84	39.05	37.01	37.50	1.30	3.48
<b>T3</b>	40.26	39.77	40.28	39.29	39.20	38.91	39.62	0.58	1.45
<b>T4</b>	35.02	35.53	36.04	36.58	36.09	35.07	35.72	0.62	1.74

R1\*, R2\*, R3\*, R4\*, R5\*, R6\* son las 6 repeticiones realizadas por cada tratamiento

T1: control negativo

T2: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*

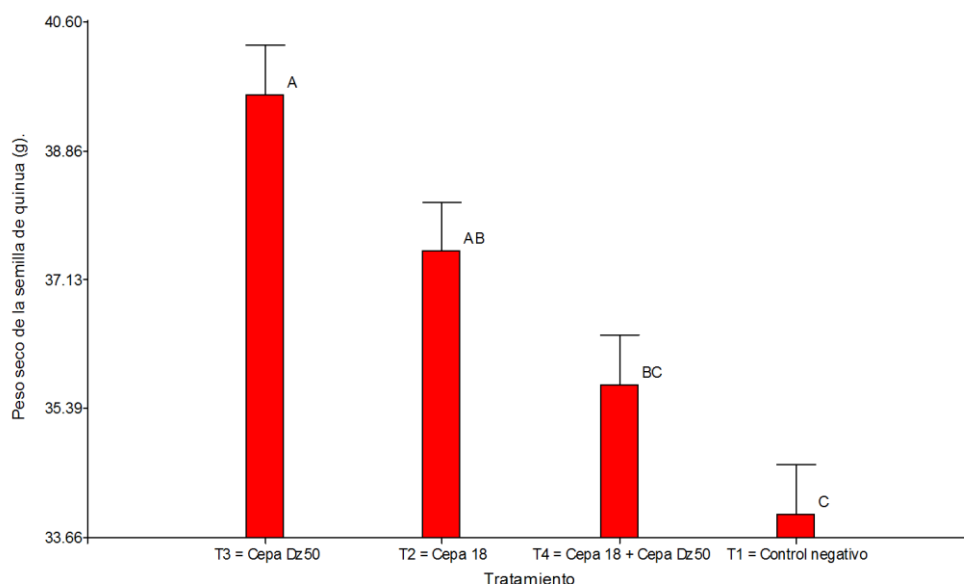
T3: semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*

T4: semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*

Para determinar el peso seco de la semilla de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada, se realizó primero el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia de la prueba.

En la evaluación del peso seco de la semilla de quinua a los 176 días después de la siembra semillas de quinua variedad INIA salcedo inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* de forma individual y asociada en contraste con el control negativo, el estadístico  $F = 13.34$ ,  $GL = 3$ , con el valor de  $P = 0.0001$ , resultó menor a  $0.05$  el cual estadísticamente es significativo entre las medias de los cuatro tratamientos, por el cual se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula, la cual indica que entre los 4 tratamientos si hubo una alta diferencia significativa, **Figura 25**.

El análisis de varianza (ANOVA) determinó que existe diferencia significativa en todos los tratamientos y en la Prueba estadística de Tukey se determinó que los promedios de los peso seco de la semilla de quinua (g), fueron estadísticamente significativa con respecto al control negativo (T1), con un grado de significancia  $\alpha = 0.05$ , demostrándonos que si existe una alta diferencia significativa entre los tratamientos y control negativo. La Prueba estadística de Tukey indica que medias con letras en común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).



**Figura 25.** Comparación de peso seco (g) de semilla de la quinua, CIP Camacani de la UNA- Puno -23/04/18



El mayor promedio es el T3 se debe a que la quinua tiene un fruto en aquenio que comprende desde el exterior al interior como es el perigonio, el pericarpio, el episperma y la semilla compuesta de embrión y perisperma (Mujica *et al.*, 2013).

La cosecha de la quinua debe realizarse con la debida oportunidad para evitar el deterioro del grano (Mujica *et al.*, 2004) (Quezada, & Campomanes, 2015), por otro lado otro de los factores es la humedad de la planta, si a la madurez del cultivo hay un periodo de humedad ambiental alta superior de 70 % se produce la germinación de los granos en la panoja, con la consiguiente pérdida de la cosecha o por lo menos se produce amarillamiento y fermentación o cambio de color de los granos, provocando perdida de la calidad de la cosecha (Mujica *et al.*, 2013).

Por otro lado en un estudio realizado por (Sotomayor, 2013) de *Vicia faba* L. menciona que los requerimientos de nitrógeno pueden ser cubiertos, en parte, por la fijación biológica a través de la bacteria *Rhizobium leguminosarum* vs. *viceae*. Pero en las variables de crecimiento no observó efecto de las fuentes de nitrógeno utilizadas, sin embargo, a nivel de cultivar, Verde Bonita logra la mayor producción de materia seca.

Asu vez Ogata & Zúñiga (2005) en la rizósfera de la tara (*Caesalpinia spinosa*), las cepas bacterianas no evidenciaron tolerancia a altos niveles de NaCl (>1%) ni a temperaturas de 37 y 40 °C, crecieron en pH de 4 a 8.8, entre los microorganismos aislados se encuentra 3 cepas de *Azotobacter spp*, 8 de actinomicetos y 13 de *Pseudomonas spp*. Y así también da a conocer que la cepa de *Rhizobium* rP2N3 destacó por crecer tanto en pH ácido como alcalino, siendo además la única que creció a niveles de NaCl de hasta el 1% en comparación de las demás cepas que mostraron sensibilidad a esta sal.

## V. CONCLUSIONES

La diferencia porcentual de germinación *in vitro* de semillas de quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.*, en forma individual y asociada, no se obtuvo diferencia significativa entre los tratamientos con un valor P de 0.7710 siendo esta ( $P > 0.05$ ), más sí hubo una diferencia aritmética por parte del T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) el de mayor eficiencia en la evaluación *In vitro* con un 87 % con relación a los 3 tratamientos restantes.

La diferencia porcentual del porcentaje de emergencia de la quinua inoculadas con *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* a nivel de campo abierto, en forma individual y asociada, no se obtuvo diferencia significativa entre los tratamientos con un valor F = 0.62, P = 0.6078 siendo esta ( $P > 0.05$ ).

En cuanto a la evaluación de la longitud de la planta el mejor tratamiento es el T2 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*) mostrando 82.44 cm de longitud a los 176 días después de la siembra con un valor de F = 54.53 y P = 0.0001, al peso fresco el mejor tratamiento obtenido es el T2 (semillas inoculadas con *Pseudomonas sp.*) a los 176 días con un peso de 163.54 g con un valor de F = 59.27 y un P = 0.0001 siendo esta  $P > 0.05$ , en cuanto a la evaluación del peso seco aéreo no se obtuvo una diferencia significativa.

En la evaluación del peso seco de la semilla a los 176 días el mejor tratamiento fue el T3 (semillas inoculadas con *Rhizobium sp.*) con valor de F = 13.34 y un P = 0.0001 siendo esta menor al  $P < 0.05$ , con respecto a los 4 tratamientos.

## VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda a los tesisistas e investigadores, realizar el estudio de la quinua inoculada en condiciones controladas a nivel de invernadero.
- ✓ Así también se recomienda realizar el mismo estudio con la técnica de peletización con cepas bacterianas, en condiciones controladas.
- ✓ Realizar ensayos para determinar el inóculo efectivo para promover el crecimiento de la quinua.

## VII. REFERENCIAS

- Akansha, J., & Sampa, D. (2016). Insight into the Interaction between Plants and Associated Fluorescent *Pseudomonas* spp. *International Journal of Agronomy*, 2016, 8. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/4269010>
- Antoun, H., & Prévost, D. (2005). Ecology of plant growth promoting Rhizobacteria. In *PGPR: biocontrol and biofertilization* (pp. 1–38). Canada. <https://doi.org/10.1007/1-4020-4152-7>
- Anyaipoma, C. K. (2014). *Peletización de semillas de trébol con Pseudomonas sp aisladas de la rizósfera de maca, y evaluación de su efecto en la emergencia de semillas*. Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Bécquer, C. J., Lazarovits, G., Nielsen, L., Quintana, M., Adesina, M., & Quigley, L. (2015). Efecto de la inoculación con bacterias rizosféricas y Trichoderma en trigo ( *Triticum aestivum* L .) Effect of the inoculation with rhizospheric bacteria and Trichoderma in wheat ( *Triticum aestivum* L .), 38(1), 29–37.
- Bécquer Granados, C. J., Prévost, D., Juge, C., Gauvin, C., & Delaney, S. (2012). Efecto de la inoculación con bacterias rizosféricas en dos variedades de trigo. Fase I: condiciones controladas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(5), 973–984. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i5.1388>
- Bendezú Ccanto, J. Y. (2018). *Efecto de la germinación de tres variedades de quinua: Roja (INIA-415 Pasankalla), Negra (INIA 420-Negra Collana) y Blanca (Salcedo INIA) en la formulación y elaboración de una bebida funcional con capacidad antioxidante*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Universidad del Perú. Decana de América Facultad de Farmacia y Bioquímica Escuela Profesional de Ciencia de los Alimentos Efecto.
- Bojanic, A. (2011). *La quinua : Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial*. Proinpa. Bolivia. [https://doi.org/http://www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/cultivo\\_quinua\\_es.pdf](https://doi.org/http://www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/cultivo_quinua_es.pdf)

- Choque Estrada, R. (2017). Influencia de tres bacterias fijadoras de nitrógeno con y sin abonamiento en suelos degradados, en el cultivo de la quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) en la estación experimental de Patacamaya. Universidad Mayor de San Andrés.
- Criollo, H., Insuasti, K., & Delgado, W. (2016). Regeneración in vitro de plantulas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav. Sendt.). *Ciencias Agrícolas*, 10(2), 252–261. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v10n2/v10n2a06.pdf>
- Del Castillo, T. (2008). Metabolismo De La Glucosa En *Pseudomonas putida* (Tesis Doctoral). Universidad de Granada, Facultad de Ciencias.
- Deza Montoya, D. (2018). Rendimiento y calidad de la Quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) con dos densidades de siembra y dos sistemas de fertilización en condiciones de la molina. Univerisdad Nacional Agraria la Molina.
- Eckford, R.; Cook, F.; Saul, D.; Aislabie, J. y Foght, J. (2002). Free-living heterotrophic nitrogen-fixing bacteria isolated from fuel contaminated antarctic soil. *Environ Microbiol.*, 5181–5185.
- Fuentes Colmeiro, R. (2006). Agrosistemas sostenibles y ecológicos: La reconversión agropecuaria. (Universidad de Santiago de Compostela, Ed.). España: Universidade de Santiago de Compostela. Servizo de Publicacións e Intercambio Científico.
- Glick, B. R., & Glick, B. R. (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica*, 2012, 1–15. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Goita, J. E. (2014). Aislamiento de Bacterias Diazotróficas en Suelos de Cultivo, Virgen y Humus de Lombriz del distrito de Puno y su Efecto in vitro en la Germinación de la Quinua (*Chenopodium quinoa WILLD.*). Universidad Nacional del Altiplano.
- Jain, A., & Das, S. (2016). Insight into the Interaction between Plants and Associated Fluorescent *Pseudomonas* spp. *International Journal of Agronomy*, 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/4269010>
- Liceta LLanco, M. (2015). Aislamiento y caracterización de *Pseudomonas* y *Bacillus* provenientes de la rizósfera de diferentes, Universidad Nacional Agraria la Molina. Pag.

95.

- LLanos, M. (2017). Bacterias solubilizadoras de fosfato del género *Bacillus* en suelos de la provincia de El Collao (Puno) y su efecto en la germinación y crecimiento de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) en condiciones de inverdadero. Universidad Nacional del Altiplano.
- López-Alcocer, J. de J., Lépiz-Ildefonso, R., González-Eguiarte, D. R., Rodríguez-Macias, R., López-Alcocer, E., & Olalde-Portugal, V. (2017). Caracterización Morfológica y Bioquímica de Cepas de *Rhizobium* Colectadas en Frijol Común Silvestre y Domesticado. *Fitotec. Mex.*, *40*(1), 73–81.
- Loredo, Osti, C., López-Reyes, L., & Espinosa-Victoria, D. (2004). Bacterias promotoras el crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: una revisión. *Plant Growth-Promoting Bacteria in Association with Graminaceous Species: A Review. TERRA Latinoamericana*, *22*(2), 225–239.
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, *63*, 541–556.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>
- Mamani Callata, J. (2018). Efecto de la inoculación con bacterias diazotroficas en la germinación y crecimiento de la quinua (*Chenopodium quinoa WILD.*) en condiciones controladas. Universidad Nacional del Altiplano.
- Matos Cuzcano, G., & Zuñiga Dávila, D. (2002). Comportamiento de cepas nativas de Rizobios aisladas de la costa del Perú en dos cultivares de Pallar (*Phaseolus lunatus L.*). *Ecología Aplicada*, *1*(1), 24.
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2017). La Quinua: Producción y comercio del Perú. *Dirección General De Políticas Agrarias Dirección De Estudios Económicos E Información Agraria*, 8 p.
- Moreno Reséndez, A., García Mendoza, V., Reyes Carrillo, J. L., Vásquez Arroyo, J., & Cano Ríos, P. (2018b). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una

- alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), 68–83. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707>
- Mujica, A. Izquierdo, J., Marathe, J. & J. S. (2004). *Libro Quinoa: Ancestral Cultivo Andino, Alimento del presente y Futuro. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación -FAO*. (CIP, Ed.). Puno - Perú: UNA.
- Mujica, Ángel ; Suquilanda, Manuel; Chura, Ernesto; Ruiz , Enrique; León, Alicia; Cutipa, Sabino y Ponce, C. (2013). *Producción Orgánica de la Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)*. Puno - Perú.
- Mujica, Á. (1989). *Fases fenológicas del cultivo de la quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)*. Puno - Perú: Salcedo, 7-10 agosto, INIAA, EEZA- ILLA, PICA, PISA,.
- Mujica, A. ; & Canahua, A. (1989). Fases fenológicas del cultivo de la quinoa (Chenopodium quinoa Willd.). Curso Taller Fenología de Cultivos Andinos y Uso de la Información Agrometeorológica. In *Fases fenológicas del cultivo de la quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)* (pp. 1–4). Perú.
- Nautiyal, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170(1), 265–270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- Nelson, K.; Weinel, C; Paulsen, I.; Dodson, R.; Hilbert, H.; Martins dos Santos, V.; Fouts, D.; Gill, S.; Pop, M.; Holmes, M.; Brinkac, L.; Beanan, M.; DeBoy, R.; Daugherty, S.; Kolonay, J.; Madupu, R.; Nelson, W.; White, O.; Peterson, J.; Khouri, H.; Han, C. (2002). Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. *Environ Microbiol.*, 799–808.
- Nieto, D. (2017). *Optimización de la producción de biomasa de Rhizobium sp. y su uso en la peletización de semillas de quinoa “Chenopodium quinoa Willd.”*. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Ogata, K., & Zúñiga, D. (2005). Estudio de la microflora de la rizósfera de *Caesalpinia spinosa* en la provincia de Huanuco. *Zonas Áridas*, 12(1), 191–208.

- Orozco-jaramillo, C., & Martínez-nieto, P. (2009). Evaluación de la inoculación con microorganismos fijadores de nitrógeno asimbióticos aislados de la rizósfera de *Pinus patula* en Colombia. Evaluation of inoculation with asymbiotic nitrogen-fixing microorganisms isolated from rhizosphere of *Pinus patula* in. *Bosque*, 30(2), 70–77.
- Pii, Y., Mimmo, T., Tomasi, N., Terzano, R., Cesco, S., & Crecchio, C. (2015). Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. *Biology and Fertility of Soils*, 51(4), 403–415. [https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00374-015-0996-1](https://doi.org/10.1007/s00374-015-0996-1)
- Puente, R., Omar, E., Jesús, O. G., Hoyos, B., Manuel, J., Jesús, L., Dolores, R. (2015). Los fertilizantes biológicos en la agricultura. *Invurnus*, 10(1), 10–17.
- Quezada, C. S., & Campomanes, M. P. (2015). Rendimiento de seis variedades de *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” en Nuevo Chimbote. *Conocimiento Para El Desarrollo*, 6(1).
- Ramos, E. (2007). *Efecto de Diferentes Inoculantes Sobre la Actividad Microbiana en la Rizosfera del Cultivo de Pallar (Phaseolus lunatus var. sieva) en Condiciones de Campo*. Universidad Agraria La Molina.
- Roquigny, R., Novinscak, A., Biessy, A., & Filio, M. (2017). Pseudomonadaceae: From Biocontrol to Plant Growth Promotion. In *Rhizotrophs: Plant Growth Promotion to Bioremediation* (pp. 39–68). Singapore: Springer, Singapore. [https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-981-10-4862-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-10-4862-3_3)
- Sanchez, D. B. (2011). Efecto de la inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre el cultivo de tomate (*solanum lycopersicum* var. sofía) bajo invernadero. *Tesis*, 92.
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M. del C., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183, 92–99. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008](https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008)
- Satyaprakash, M., Nikitha, T., Reddi, E., Sadhana, B., & Satya Vani, S. (2017). Phosphorous



and Phosphate Solubilising Bacteria and their Role in Plant Nutrition. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 2133–2144.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.604.251>

Sotomayor sepúlveda, P, (2013). *Efecto de la inoculación con Rhizobium sobre el rendimiento de dos cultivares de Haba (Vicia faba L.) de crecimiento determinado, establecidos en dos fechas de siembra*. Universidad de Chile.

Vergani, I. &, & Zúñiga Dávila, D. (2018). Efecto de la inoculación y peletización en la germinación y crecimiento de plantas de maca (*Lepidium meyenii* W.) a nivel in vitro e invernadero. *Revista Peruana de Biología*, 25(3), 329.  
<https://doi.org/10.15381/rpb.v25i3.14035>

Zurita-Valencia, W., Gómez-Cruz, J. E., Atrián-Mendoza, E., Hernandez-Gracia, A., Granados-García, M. E., García-Magaña, J., Sánchez-Vargas, N.(2014). Establecimiento de un método eficiente de germinación in vitro y micropagación del cirimo (*Tilia mexicana schlecht.*). *Polibotánica*, (38), 129–144.

## Anexos



**Figura 26.** Evaluación del porcentaje de germinación *in vitro* realizado en el laboratorio de Microbiología de la UNAP- FCCBB.



**Figura 27.** Evaluación del porcentaje de emergencia de las semillas de quinua inoculadas, a nivel de abierto en maceta.



**Figura 28.** Medición de la longitud del tallo (cm) de la quinua a los 50,108 y 176 días después de la siembra.



**Figura 29.** Evaluación del peso fresco de la quinua a los 50, 108 y 176 días después de la siembra.



**Figura 30.** Evaluación del peso seco de la quinua en los diferentes estadios fenológicos programados.




**Figura 31.** Evaluación del peso seco de la semilla de la quinua al final del cultivo.

**CONSTANCIA N°012.**

LA QUE SUSCRIBE: COORDINADORA DEL PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA Y LABORATORIO CLINICO:

Hace constar que la señorita TANIA PILAR NINA LARICO ha realizado su trabajo de investigación denominado “EFECTO DE LA INOCULACION DE BACTERIAS PGPR *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* EN EL CULTIVO DE LA QUINUA (*Chenopodium quinoa Wiild*) realizado en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas, según solicitud y autorización de fecha Noviembre del 2017 al mes de Abril del 2018: de acuerdo al informe del señor Técnico de laboratorio Leonidas Teves Alejo (bajo su responsabilidad). Se emite la presente, para fines de trámite documentario solicitado por la Coordinación de investigación de la FCCBB.

C.U Octubre del 2019




-----  
Dra. Wicky C. GONZALES ALCOS  
Coordinadora del programa de  
Microbiología y Laboratorio Clínico.

**CONSTANCIA N°012.**

LA QUE SUSCRIBE: COORDINADORA DEL PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA Y LABORATORIO CLINICO:

Hace constar que la señorita TANIA PILAR NINA LARICO ha realizado su trabajo de investigación denominado “EFECTO DE LA INOCULACION DE BACTERIAS PGPR *Pseudomonas sp.* y *Rhizobium sp.* EN EL CULTIVO DE LA QUINUA (*Chenopodium quinoa Wiild*) realizado en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas, según solicitud y autorización de fecha Noviembre del 2017 al mes de Abril del 2018: de acuerdo al informe del señor Técnico de laboratorio Leonidas Teves Alejo (bajo su responsabilidad) . Se emite la presente, para fines de trámite documentario solicitado por la Coordinación de investigación de la FCCBB.

C.U Octubre del 2019



-----  
Dra. Wicky C. GONZALES ALCOS  
Coordinadora del programa de  
Microbiología y Laboratorio Clínico.



## UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Av. La Universidad s/n La Molina - Lima - Perú  
Teléfono: 6147800 Anexo 274

LEMB N° 010 – 2019

La Molina, 02 de abril de 2019

Srta.  
**TANIA PILAR NINA LARICO**  
Tesisista de pregrado  
Universidad Nacional del Altiplano

Presente.-

De mi consideración:

Mediante la presente me dirijo a usted para saludarla cordialmente y hacer constar que, con motivos de ejecución de tesis de pre grado titulado "Efecto de inoculantes bacterianos *Pseudomonas* sp. y *Rhizobium* sp. en el cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.)", se hizo envío en fecha 01 de noviembre del 2017. Para tal motivo y con fines de investigación las cepas bacterianas "DZ50" y "PQLMT18", bacterias con características promotoras de crecimiento vegetal (PGP) pertenecientes a los géneros *Rhizobium* y *Pseudomonas* respectivamente, caracterizadas y conservadas en banco de cepas del Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología.

Adjunto: Características remisión.

Atte



  
**Dra. Doris Zúñiga Dávila**

LEMYB Marino Tabusso  
Prof. Principal Dpto de Biología  
Universidad Nacional Agraria La Molina  
Av. La Molina s/n La Molina, Lima-Perú

**LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA**

☎ (511)614 - 7800 anexo 274 - E-mail: [lmt@lamolina.edu.pe](mailto:lmt@lamolina.edu.pe)  
Apartado Postal 456 - Lima 12 - PERU

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**Av. La Universidad s/n La Molina - Lima - Perú  
Teléfono: 6147800 Anexo 274**CARACTERÍSTICAS DE REMISIÓN:**

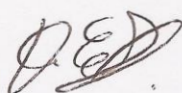
Cepas reactivadas en caldo levadura manitol (LMC) y cultivadas en medio agar levadura manitol (LMA) una placa por cepa, transportadas en envase hermético de polipropileno con gel packs.

**Cepa "PQLMT18":**

- Género: *Pseudomonas sp.*
- Procedencia.- Aisladas de rizósfera de quinua de campo de cultivo de la Estación Experimental INIA Salcedo - Puno, en el marco del Proyecto Nro. 105-2014 FONDECYT "Transcriptómica de las PGPRs tolerantes al estrés por frío y su efecto en la expresión de genes y producción de metabolitos en plantas de quinua".

**Cepa "DZ50":**

- Género: *Rhizobium sp.*
- Procedencia.- Aisladas de rizósfera de quinua de campos de cultivo de la región Puno, en el marco del Proyecto PROCYT-355-2012-CONCYTEC-OAJ "Influencia de las bacterias promotoras de crecimiento en el contenido de nutrientes de la quinua, para la seguridad alimentaria en las zonas altoandinas".

**LABORATORIO DE ECOLOGIA MICROBIANA Y BIOTECNOLOGIA**☎ (511)614 - 7800 anexo 274 - E-mail: [lm@lamolina.edu.pe](mailto:lm@lamolina.edu.pe)  
Apartado Postal 456 - Lima 12 - PERU

19/11/2019

Gmail - Fwd: Datos de tesista: Tania Pilar Nina larico



Tania Pilar. Nina Larico <videretania.pilar@gmail.com>

**Fwd: Datos de tesista: Tania Pilar Nina larico**  
3 mensajes

**Lisbeth Ortega Diaz** <lortega@senamhi.gob.pe>  
Para: videretania.pilar@gmail.com

11 de noviembre de 2019, 9:52

se remite la información solicitada en atención al expediente 8489

**De:** "Lenin Suca" <leninsuca20@gmail.com>  
**Para:** "Lisbeth Ortega Diaz" <lortega@senamhi.gob.pe>  
**CC:** "Sixto Flores Sancho, DZ13" <sflores@senamhi.gob.pe>  
**Enviados:** Viernes, 8 de Noviembre 2019 19:43:36  
**Asunto:** Datos de tesista: Tania Pilar Nina larico

Envío datos a solicitud de tesista con numero de registro N° 8489  
SENAMHI Puno - DZ13  
Lenin Suca

a\_Tania.rar  
7K

**Lisbeth Ortega Diaz** <lortega@senamhi.gob.pe>  
Para: videretania.pilar <videretania.pilar@gmail.com>

13 de noviembre de 2019

**De:** "Lisbeth Ortega Diaz" <lortega@senamhi.gob.pe>  
**Enviados:** Miércoles, 13 de Noviembre 2019 14:49:15  
**Asunto:** Fwd: Datos de tesista: Tania Pilar Nina larico

se remite la información solicitada en atención al expediente 8489

	<p><b>Lisbeth Ortega Diaz</b> ASISTENTE ADMINISTRATIVO DZ13 DIRECCIÓN ZONAL 13 - PUNO SENAMHI - PERÚ</p>	<p><b>D:</b> Jr. Carlos Rubina 158 - B Puno <b>T:</b> 051-353242 Anexo - <b>C:</b> - <b>E:</b> lortega@senamhi.gob.pe <b>W:</b> www.senamhi.gob.pe</p>
--	--	--

SENAMHI es una institución responsable con el medio ambiente. Le pedimos no imprimir este correo a menos que sea absolutamente necesario. Reduzca - Reuse - Recicle

a\_Tania.rar  
7K

**Tania Pilar. Nina Larico** <videretania.pilar@gmail.com>  
Para: "Fredy I. SUCARI C." <fredsu92@gmail.com>

19 de noviembre de 2019, 11:14

----- Mensaje reenviado -----  
**De:** Lisbeth Ortega Diaz <lortega@senamhi.gob.pe>  
**Fecha:** lunes, 11 de noviembre de 2019  
**Asunto:** Fwd: Datos de tesista: Tania Pilar Nina larico  
**Para:** videretania.pilar@gmail.com  
[El texto citado está oculto]

a\_Tania.rar  
7K

<https://mail.google.com/mail/u/0?ik=063546e97b&view=pt&search=all&permthid=thread-f%3A1649917938126065535&siml=msg-f%3A1649917...> 1/1