



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



**EFFECTO DE BACTERIAS *Azotobacter* sp EN EL
CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CEBOLLA (*Allium
cepa*) EN CONDICIONES DE LABORATORIO**

TESIS

PRESENTADO POR:

Bach. ZULLY AYLIN GAMARRA CHAMBI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO PERÚ

2022



DEDICATORIA

A nuestro señor Dios por darme salud, sabiduría y por protegerme en todo momento de mi vida, dándome fortaleza para seguir adelante en mis objetivos, acompañándome de la mano en cada paso que daba.

A mi querida madre Estela Chambi Vargas, por confiar ciegamente en mí, dándome las mejores enseñanzas de vida que son la humildad, los valores y la fuerza para afrontar todo tipo de problemas y lograr así ser una persona extraordinaria, fuerte e independiente.

A mi querido padre Alvaro Gabino Gamarra Pérez, por brindarme su apoyo incondicional en todo momento, esforzándose siempre por mí y por mi familia, le dedico este primer gran logro de mi vida.

Mis queridos padres les dedico con mucho amor y cariño este reconocimiento y mucho más sabiendo que no existirá una forma de agradecer en esta vida todo lo que hicieron por mí, todo ese sacrificio y esfuerzo para que pudiera estudiar y superarme, logrando así ser un gran orgullo para ustedes, mi eterno agradecimiento papitos, gracias por todo, los amo.

Zully Aylin Gamarra Chambi



AGRADECIMIENTOS

A la universidad Nacional del Altiplano de Puno, Facultad de Ciencias Biológicas que me abrieron sus puertas para poder emprender mi camino profesional.

A todos los docentes que inculcaron en mi formación profesional con sus grandes consejos, experiencias y exigencias para ser un profesional de excelencia.

A mis padres Alvaro Gamarra y Estela Chambi que confiaron e hicieron un arduo trabajo y pusieron toda su fe en mí, ayudándome a concluir de una manera satisfactoria mis estudios superiores y también agradecer a mis hermanos Arnold, Anthony y Álvaro por la paciencia y apoyo que me brindaron en todo momento.

A la directora de la presente tesis Mg. Diana Elizabeth Cavero Zegarra, por su asesoría y su apoyo durante el desarrollo de la tesis.

Al jurado conformado por las docentes, Dr. Youri Teresa del Carpio Condori, Dra. María Trinidad Romero Torres y la Mg. Ciria Ivone Trigos Rondón, por sus sugerencias, correcciones y revisión del Informe Final de Tesis.

Finalmente agradezco a mis amigos de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, Julio Mendoza, Joel Mamani, Cristhian Velásquez y Verónica Vásquez por haberme acompañado en mi travesía universitaria haciéndola una aventura con buenos y malos momentos que nunca me olvidare y de manera especial a Rodrigo Zela por haberme acompañado y dándome ánimos para comenzar en esta nueva etapa profesional.

Zully Aylin Gamarra Chambi



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 11

ABSTRACT..... 12

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 OBJETIVO GENERAL..... 14

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 14

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES 16

2.2 MARCO TEÓRICO..... 18

2.2.1 *Azotobacter* sp..... 18

2.2.2 Carga bacteriana en suelos..... 21

2.2.3 Características de los suelos como campos de cultivo..... 25

2.2.4 Inoculaciones bacterianas en semillas y plantas 28

2.2.5 Cebolla (*Allium cepa* L.)..... 31

2.2.6 Variables de crecimiento vegetal 33

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ZONA DE ESTUDIO 36

3.2 TIPO DE ESTUDIO..... 38

3.3 METODOLOGÍA 39

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARGA BACTERIANA DE *Azotobacter* sp EN TRES CAMPOS DE



CULTIVO DE COMUNIDADES DE LOS DISTRITOS DE JULIACA (UNOCOLLA), LAMPA (CHAÑOHAGUA) Y PUNO (SILLUNIAMAYA)..	43
4.2 EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS <i>Azotobacter</i> sp EN LA LONGITUD DE RAÍCES, ALTURA Y PESO TOTAL DE PLÁNTULA, GROSOR DE TALLO Y DIÁMETRO DE BULBO EN PLÁNTULAS DE CEBOLLA (<i>Allium cepa</i>) EN CONDICIONES DE LABORATORIO	50
V. CONCLUSIONES.....	73
VI. RECOMENDACIONES	74
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
ANEXOS.....	88

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 10 de febrero del 2022.

ÁREA: Ciencias Biomédicas.

LÍNEA: Diagnóstico y Epidemiología.



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Zonas de muestreo de campos de cultivo Unocolla (a), Chañohagua (b) y Silluniamaya (c) en tres provincias de la región Puno.	37
Figura 2. Prueba de Tukey comparando los recuentos de <i>Azotobacter</i> sp en campos de cultivo de tres comunidades de la región Puno.	45
Figura 3. Prueba de Tukey comparando los recuentos de <i>Azotobacter</i> sp según los meses de muestreo en tres comunidades de la región Puno.	46
Figura 4. Prueba de Tukey comparando la longitud de raíz (LONG_RAÍZ) de cebolla pos aplicación de tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp ($C_1 = 1.5 \times 10^5$ cél./ml; $C_2 = 3.0 \times 10^5$ cél./ml; $C_3 = 6.0 \times 10^5$ cél./ml).	52
Figura 5. Prueba de Tukey comparando la altura de plantas (ALT_PLANTA) de cebolla pos aplicación de tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp ($C_1 = 1.5 \times 10^5$ cél./ml; $C_2 = 3.0 \times 10^5$ cél./ml; $C_3 = 6.0 \times 10^5$ cél./ml).	57
Figura 6. Prueba de Tukey comparando el grosor de tallo (GROS_TALLO) de cebolla pos aplicación de tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp ($C_1 = 1.5 \times 10^5$ cél./ml; $C_2 = 3.0 \times 10^5$ cél./ml; $C_3 = 6.0 \times 10^5$ cél./ml).	61
Figura 7. Prueba de Tukey comparando el diámetro de bulbo (DIÁM_BULBO) de cebolla pos aplicación de tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp ($C_1 = 1.5 \times 10^5$ cél./ml; $C_2 = 3.0 \times 10^5$ cél./ml; $C_3 = 6.0 \times 10^5$ cél./ml).	65
Figura 8. Prueba de Tukey comparando el peso total (CONC_Azotobacter) de cebolla pos aplicación de tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp ($C_1 = 1.5 \times 10^5$ cél./ml; $C_2 = 3.0 \times 10^5$ cél./ml; $C_3 = 6.0 \times 10^5$ cél./ml).	70
Figura 9. Comunidades de muestreo Unocolla (a), Chañohagua (b) y Silluniamaya (c) de suelos para recuento y aislamiento de <i>Azotobacter</i> sp.	88
Figura 10. Muestras de suelo colectadas en tres campos de cultivo de las comunidades de Unocolla, Chañohagua y Silluniamaya.	88
Figura 11. Compuestos químicos utilizados para preparar el medio mineral sin nitrógeno para el aislamiento de bacterias <i>Azotobacter</i> sp.	88
Figura 12. Preparación de diluciones 10^{-1} , a partir del cual se realizaron las diluciones de 10^{-2} hasta 10^{-8} para recuento de <i>Azotobacter</i> sp.	89
Figura 13. Placas Petri con medio mineral sin nitrógeno pre cultivados (a) y pos cultivados con muestras de suelo (b).	89



Figura 14. Observación de la tinción de Gram de colonias de <i>Azotobacter</i> sp.	89
Figura 15. Recuento de colonias de <i>Azotobacter</i> sp en placas Petri aislados de campos de cultivo de tres comunidades de la región Puno.	90
Figura 16. Preparación de las diluciones (10^{-2} a 10^{-8}) de muestras de suelo de tres comunidades de la región Puno.....	90
Figura 17. Preparación de soluciones inoculantes de bacterias <i>Azotobacter</i> sp mediante la técnica de McFarland.....	90
Figura 18. Plántulas de cebolla (<i>Allium cepa</i>) previo a la inoculación de <i>Azotobacter</i> sp.	91
Figura 19. Plántulas de cebolla (<i>Allium cepa</i>) pos inoculación con tres diluciones de <i>Azotobacter</i> sp y su tratamiento control.....	91
Figura 20. Mediciones biométricas de las plántulas de cebolla (<i>Allium cepa</i>) al finalizar el tiempo de tratamiento con <i>Azotobacter</i> sp.....	91
Figura 21. Flujoograma del trabajo de investigación	92
Figura 22. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para recuentos de <i>Azotobacter</i> sp en suelos de tres comunidades de la región Puno.....	93
Figura 23. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para recuentos de <i>Azotobacter</i> sp en suelos de tres comunidades de la región Puno.....	93
Figura 24. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) para recuentos de <i>Azotobacter</i> sp en tres meses de muestreo en la región Puno.....	94
Figura 25. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para recuentos de <i>Azotobacter</i> sp en tres meses de muestreo en la región Puno.	94
Figura 26. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para longitud de raíces (LONG_RAÍZ) en cebolla (<i>Allium cepa</i>) inoculadas con tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp.....	95
Figura 27. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para longitud de raíces (LONG_RAÍZ) en cebolla (<i>Allium cepa</i>) inoculadas con tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp.	95
Figura 28. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para altura de planta (ALT_PLANTA) en cebolla (<i>Allium cepa</i>) inoculadas con tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp.....	96
Figura 29. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para altura de planta	



(ALT_PLANTA) en cebolla (<i>Allium cepa</i>) inoculadas con tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp.	96
Figura 30. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para grosor de tallo (GROS_TALLO) en cebolla (<i>Allium cepa</i>) inoculadas con tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp.	97
Figura 31. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para grosor de tallo (GROS_TALLO) en cebolla (<i>Allium cepa</i>) inoculadas con tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp.	97
Figura 32. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para diámetro de bulbo (DIÁM_BULBO) en cebolla (<i>Allium cepa</i>) inoculadas con tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp.	98
Figura 33. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para diámetro de bulbo (DIÁM_BULBO) en cebolla (<i>Allium cepa</i>) inoculadas con tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp.	98
Figura 34. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para peso total (PESO_TOTAL) en cebolla (<i>Allium cepa</i>) inoculadas con tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp.	99
Figura 35. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para peso total (PESO_TOTAL) en cebolla (<i>Allium cepa</i>) inoculadas con tres concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp.	99



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Recuentos de colonias de <i>Azotobacter</i> sp en tres campos de cultivos (Unocolla, Chañohagua y Silluniamaya) durante tres meses consecutivos (diciembre 2019, enero y febrero 2020).....	44
Tabla 2. Longitud de raíces (cm) de cebolla (<i>Allium cepa</i>) post inoculación con bacterias <i>Azotobacter</i> sp en tres concentraciones.	51
Tabla 3. Altura de planta (cm) de cebolla (<i>Allium cepa</i>) post inoculación con bacterias <i>Azotobacter</i> sp en tres concentraciones.....	56
Tabla 4. Grosor de tallo (cm) de cebolla (<i>Allium cepa</i>) post inoculación con bacterias <i>Azotobacter</i> sp en tres concentraciones.....	60
Tabla 5. Diámetro de bulbo (cm) de cebolla (<i>Allium cepa</i>) post inoculación con bacterias <i>Azotobacter</i> sp en tres concentraciones.	64
Tabla 6. Peso total de plantas (g) de cebolla (<i>Allium cepa</i>) post inoculación con bacterias <i>Azotobacter</i> sp en tres concentraciones.	69



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

- cc : comunidad campesina
- FAO : Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
- \bar{X} : promedio
- C_1 : concentración de *Azotobacter* sp de 1.5×10^5 cél./ml.
- C_2 : concentración de *Azotobacter* sp de 3.0×10^5 cél./ml.
- C_3 : concentración de *Azotobacter* sp de 6.0×10^5 cél./ml.
- g : gramos



RESUMEN

La investigación consistió en inocular bacterias del género *Azotobacter sp* en plántulas de cebolla (*Allium cepa*) con la finalidad de estimular su crecimiento, se ejecutó en el laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del altiplano Puno, durante los meses de diciembre del 2019 a febrero del 2020. Los objetivos fueron evaluar la carga bacteriana de *Azotobacter sp* en tres campos de cultivo comprendidos en los distritos de Juliaca (Unocolla), Lampa (Chañohagua) y Puno (Silluniamaya) y su efecto de la inoculación de bacterias *Azotobacter sp* en la longitud de raíces, altura, peso total de plántula, grosor de tallo y diámetro de bulbo en plántulas de cebolla (*Allium cepa*). La metodología aplicada fue determinar la carga bacteriana de los suelos mediante la técnica de recuento en placa, a partir de diluciones 10^{-3} a 10^{-5} , en dichos suelos se comprobó el contenido de materia orgánica, pH y humedad; el efecto en las plántulas fue por inoculación de sus raíces con tres diluciones experimentales de *Azotobacter sp*, (1.5×10^5 cél./ml., 3.0×10^5 cél./ml y 6.0×10^5 cél./ml). Luego de 60 días se determinó su efecto en los parámetros biométricos de la plántula de cebolla, los resultados fueron analizados mediante pruebas de análisis de varianza, pruebas de T y pruebas de Tukey, con un nivel de confiabilidad del 95%, como resultados los recuentos bacterianos de *Azotobacter sp* fueron 45×10^6 UFC/g en Chañohagua, 53×10^6 UFC/g las comunidades de Unocolla y Silluniamaya el mes de diciembre, los meses de enero y febrero Unocolla presentó 43×10^6 UFC/g, Chañohagua 48×10^6 UFC/g en enero y 45×10^6 UFC/g en diciembre y febrero, Silluniamaya enero y febrero obtuvo 46×10^6 UFC/g y 63×10^6 UFC/g respectivamente, sin presentar diferencia estadística significativa ($P \geq 0.05$). La inoculación de bacterias *Azotobacter sp* en concentración bacterianas con relación al (IEI) hubo variación en los parámetros biométricos (longitud de raíces, altura de planta, grosor de tallo, diámetro de bulbo y peso total) de la plántula de cebolla, En conclusión, se determinó que las 3 comunidades presentaron diferencia estadística significativa entre las zonas de muestreo, pero no entre meses, y los mejores efectos en los parámetros biométricos fueron con una concentración bacteriana de 6.0×10^5 cél./ml.

Palabras clave: *Azotobacter*, *Allium cepa*, parámetros biométricos, inoculación, fijación biológica de nitrógeno.



ABSTRACT

The research consisted of inoculating bacteria of the genus *Azotobacter* sp in onion (*Allium cepa*) seedlings in order to stimulate their growth, was carried out in the laboratory of Botany and Biotechnology of the Faculty of Biological Sciences of the Universidad Nacional del altiplano Puno, during the months of December 2019 to February 2020. The objectives were to evaluate the bacterial load of *Azotobacter* sp in three crop fields in the districts of Juliaca (Unocolla), Lampa (Chañohagua) and Puno (Silluniamaya) and the effect of inoculation of *Azotobacter* sp bacteria on root length, height, total seedling weight, stem thickness and bulb diameter in onion (*Allium cepa*) seedlings. The methodology applied was to determine the bacterial load of the soils by means of the plate count technique, from 10⁻³ to 10⁻⁵ dilutions, in these soils the organic matter content, pH and humidity were checked; the effect on the seedlings was by inoculation of their roots with three experimental dilutions of *Azotobacter* sp , (1.5x10⁵ cells/ml, 3.0x10⁵ cells/ml and 6.0 x 10⁵ cells/ml). After 60 days its effect on the biometric parameters of the onion seedling was determined, the results were analyzed by analysis of variance tests, T tests and Tukey tests, with a reliability level of 95%, as results the bacterial counts of *Azotobacter* sp were 45 x 10⁶UFC/g in Chañohagua, 53 x10⁶UFC/g the communities of Unocolla and Silluniamaya in December, in January and February Unocolla presented 43 x 10⁶UFC/g, Chañohagua 48 x 10⁶UFC/g in January and 45 x 10⁶UFC/g in December and February, Silluniamaya in January and February obtained 46 x 10⁶UFC/g and 63 x 10⁶UFC/g respectively, without presenting significant statistical difference ($P \geq 0.05$). The inoculation of *Azotobacter* sp bacteria in bacterial concentration in relation to (IEI) there was variation in the biometric parameters (root length, plant height, stem thickness, bulb diameter and total weight) of the onion seedling, In conclusion, it was determined that the 3 communities presented significant statistical difference between sampling zones, but not between months, and the best effects on the biometric parameters were with a bacterial concentration of 6.0 x 10⁵ cells/ml.

Key words: *Azotobacter*, *Allium cepa*, biometric parameters, inoculation, biological nitrogen fixation.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La cebolla (*Allium cepa*), es una hortaliza de gran importancia en la alimentación familiar, por su contenido en minerales y vitaminas, en la provincia de Puno existe la presencia de centros poblados productores de dichas hortalizas, tales como Jayllihuaya, Chimu e Ichu, quienes abastecen de estos vegetales a las ferias y mercados de la ciudad de Puno, Juliaca e Ilave entre otros. El uso intensivo e indiscriminado de los suelos agrícolas generan un fuerte impacto ambiental negativo, de tal forma que, si no se propende por su protección y conservación, puede llegar a perder sus características y, por ende, su capacidad para ser empleado dentro de procesos productivos agrícolas, dichos factores inducen a un desequilibrio ambiental en los suelos, debido a la presencia de agroquímicos que aplican los agricultores en el control de plagas, los cuales son portadores de metales pesados entre otros contaminantes inorgánicos, alterando la biota conformada por bacterias, protozoos, anélidos, entre otros organismos benéficos para las plantas.

Esta realidad se presenta en casi la totalidad de los suelos de la provincia de Puno, en esta investigación se decidió evaluar los suelos de las comunidades de los distritos de Juliaca (Unocolla), Lampa (Chañoagua) y Puno (Silluniamaya), ya que se desconoce su carga bacteriana de *Azotobacter* sp y sus potenciales efectos en la inoculación de plántulas de cebolla y tomate, con la finalidad de que esta biotecnología bacteriana se constituya en una alternativa promisoriosa al uso de agroquímicos, que no solo traería problemas a futuras generaciones de consumidores, sino también modificarían la calidad ecológica de los suelos (Lugo & Rey, 2009).



Se investigó a las bacterias *Azotobacter* sp de vida libre, que habitan en la rizósfera de plantas y estimulan el crecimiento de las plantas mediante la biosíntesis de hormonas vegetales, fijan nitrógeno atmosférico, solubilizan de nutrientes, producen sideróforos e inclusive controlan ciertos fitopatógenos del suelo (Torriente, 2010), transformando el nitrógeno atmosférico del aire, en amonio para que pueda ser incorporado a la biosfera del suelo, lo cual representa un beneficio económico, y reduce el impacto negativo en el ambiente, debido al exagerado uso de insumos químicos en la producción agrícola (Bruinsma, 2003).

En tal sentido las bacterias *Azotobacter* sp aisladas en tres campos de cultivo de las comunidades de los distritos de Juliaca (Unocolla), Lampa (Chañoagua) y Acora (Silluniamaya), en una concentración de 6.0×10^5 cél./ml fueron las que originaron el mejor potencial biofertilizante y estimulador del crecimiento vegetal de plántulas de cebolla, con estos resultados se espera que en un futuro se constituya en una alternativa orgánica de biofertilización de cultivos vegetales de consumo humano y una biotecnología económica al alcance de los agricultores en la región Puno.

Por tal razón, la presente investigación tuvo los siguientes objetivos:

1.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto de bacterias *Azotobacter* sp en el crecimiento de plántulas de cebolla (*Allium cepa*) en condiciones de laboratorio durante los meses de diciembre, enero y febrero del 2019 al 2020.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la carga bacteriana de *Azotobacter* sp en tres campos de cultivo de



comunidades de los distritos de Juliaca (Unocolla), Lampa (Chañohagua) y Puno (Silluniamaya) entre los meses de diciembre, enero y febrero del 2019 al 2020.

- Evaluar el efecto de la inoculación de bacterias *Azotobacter* sp en la longitud de raíces, altura y peso total de plántula, grosor de tallo y diámetro de bulbo en plántulas de cebolla (*Allium cepa*) en condiciones de laboratorio.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Abril *et al.* (2017) en Colombia inocularon bacterias *Bacillus* y *Azotobacter* que promovieron el crecimiento vegetal en *Megathyrus maximus* en sequía y riego controlado, y se incrementó en la longitud y altura de planta luego de 62 días, por otro lado, Esqueche & Quispe (2017) en Lambayeque (Perú) reportaron que en la rizósfera de *Asparagus officinalis* L. “espárrago”, *Azotobacter* produjo 3.406 a 34.527 ppm de amonio y 0.275 a 5.391 ppm de fósforo soluble, logrando incrementar la altura y número de tallos del espárrago, en 3.519 a 38.094% y 8.259 a 86.046%, respectivamente, asimismo, Arguello *et al.* (2016) en Santander (Colombia) mencionaron que el mayor recuento de bacterias diazotróficas en suelos de cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), se registró en medios NFb y JMV, con presencia de géneros bacterianos *Azospirillum* sp. y *Burkholderia* sp., debido a la presencia de exudados de las raíces.

Castellano *et al.* (2015) en Bogotá (Colombia) concluyeron que un biofertilizante en soporte orgánico mineral en el cultivo de lechuga, cinco tratamientos con 22 plantas cada uno, arrojaron que el tratamiento compost + biofertilizante y biofertilizante en soporte orgánico mineral, evidenciaron efectos en la longitud, el área foliar, el peso fresco y seco en comparación con los demás tratamientos; también Carrillo *et al.* (2015) en Santander (Colombia), determinaron que *Trichoderma* sp, *Azospirillum* RZH132 y *Azotobacter* RZH120 en plántulas de cilantro (*Coriandrum sativum* L.), lograron el acrecentamiento de las plántulas inoculadas, el crecimiento bacteriano lo obtuvieron en medios de cultivo NFb semisólido, Ashby y King B; por otra parte, investigaciones de



Goitia (2014) realizados en Puno (Perú), cuantificó la carga diazotrófica de bacterias, mediante el método del número más probable e inoculó en semillas de quinua y luego de 15 días *in vitro*, obtuvo suelos con cargas de bacterias diazotróficas >2100 NMP/g suelo, que influyen en la germinación y crecimiento vegetal.

Aycaya (2012) en Locumba (Tacna – Perú), inoculó la bacteria *Azotobacter chroococcum* en concentración de 10^7 y 10^8 UFC/ml en el cultivo de cebolla rosada (*Allium cepa* L.), logrando mejores resultados de altura y el diámetro ecuatorial de las plántulas, los mejores bulbos los obtuvo con concentraciones de 10^6 , 10^7 y 10^8 UFC/ml; estudios similares realizados por Constantino *et al.* (2011) en Cuernavaca (México), al aplicar *Azotobacter chroococcum* y *Glomus intraradices*, en plantas de papaya en vivero, en 30 días de emergencia, lograron el mayor crecimiento y biomasa en el cultivo, en comparación con la inoculación simple (solo en plántulas); además, Escobar *et al.* (2011) en Lambayeque (Perú), inocularon *Azotobacter* spp. en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill. “tomate”, la bacteria produjo de 7.10 a 57.99 mg/l de ácido indolacético, asimismo valores de 0.13 a 1.64 mg/l de nitrógeno fijado y 1.61% de eficiencia solubilizando roca fosfórica de Bayóvar, y lograron el incremento de la altura, el volumen radicular, la materia seca total, la parte aérea y la radicular frente al testigo.

Calvo & Zúñiga (2010), en Puno, aislaron cepas de *Bacillus* spp que habitan en la rizófera de papa (*Solanum tuberosum*), con valores promedios de pH de 6.25 ± 0.13 , la conductividad eléctrica de 0.46 dS/cm, la materia orgánica de 2.64%, el fósforo de 20.195 ppm, la clase textural franco arenoso, la temperatura de 10 °C; se debe agregar que Córdova *et al.* (2009) en Tabasco (México), en suelos de 110 cm de profundidad en suelos de banano, obtuvieron recuentos de *Azotobacter* fue de 11×10^5 UFC/g de suelo seco,



luego fueron inoculados en soportes orgánicos (pollinaza, pollinaza + suelo, pinzote, pinzote + suelo) y un suelo testigo; también, Ogata & Zúñiga (2008) en Huánuco (Perú), indican que la microflora de la rizósfera de tara (*Caesalpinia spinosa*) presentaron a los géneros bacterianos *Rhizobium spp*, *Bradyrhizobium spp* y *Azotobacter spp.*, actinomicetos y *Pseudomonas spp*, los cuales sostendrían parcialmente el crecimiento de la planta.

Asimismo, Calvo *et al.* (2008) también en Puno, reportan poblaciones microbianas del género *Bacillus* en la rizósfera de papa en la zona altoandina que se adaptan a cambios de temperatura, poseen genes de shock térmico (proteínas chaperonas y proteasas), solubilizan fosfato, sintetizan fitohormonas como el ácido indol acético y la controlan hongos patógenos; finalmente Chacón (2004) en Cuba, *Azotobacter* y *Azospirillum* en el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*), incrementaron las variables biométricas de las plántulas comparándola con el testigos y fertilización mineral.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 *Azotobacter sp*

Las bacterias biofertilizantes del género *Azotobacter* presentan la siguiente clasificación taxonómica:

Dominio	: Bacteria.
Phylum	: Proteobacteria.
Clase	: Gamma proteobacteria.
Orden	: Pseudomonadales.



Familia	: Azotobacteraceae.
Género	: <i>Azotobacter</i> (Ramos, 1992).
Especies	: <i>Azotobacter vinelandii</i> . <i>Azotobacter chroococcum</i> .

Azotobacter es una bacteria pleomórfica cuyo diámetro celular varía de 1.5 a 2.0 μm , poseen morfología que varía de bacilos a cocos, se visualizan como células solitarias, en pares o conformando agregados de forma irregular, también forman cadenas variables, tienen una reproducción por fisión binaria y su movimiento es por flagelos peritricos (Espín, 2000), no forman endosporas pero si quistes farmacorresistentes en condiciones ambientales adversas (Lin y Sadoff, 1968), poseen reacción catalasa positiva, son aeróbicas, quimioheterotróficas, usan azúcares, sales inorgánicas y alcoholes para su crecimiento, logran crecer a bajas concentraciones de oxígeno, pH óptimo de 7.0 – 7.5, son mesofílicos y su temperatura ideal de crecimiento de 30 °C (Mayea *et al.*, 1998), logran fijar mínimamente 10 mg de N_2/g de glucosa metabolizado, necesitan de molibdeno, y usan sales de nitrato, algunos aminoácidos y amonio como fuente de nitrógeno (Lin y Sadoff, 1968), otras especies sintetizan alginatos y poli- α -hidroxibutirato (Horan *et al.*, 1983), hormonas vegetales entre ellas auxinas, giberelinas, citoquininas y pigmentos (González y López, 1986).

Las primeras bacterias biofertilizantes producidas comercialmente fue *Azotobacter*, con las especies *A. chroococcum*, *A. paspali*, *A. vinelandii*, *A. beijerinckii*, *A. armeniacus*, *A. nigricans* y *A. salinestrus* (Page y Shivprasad, 1991), todas fijan nitrógeno asimbiótico, solubilizan fosfato y algunas degradan plaguicidas como endosulfan (Balandreau, 1986). El agar Ashby también llamado medio mineral sin nitrógeno, permite el crecimiento de bacterias asimbióticas, fijadoras de nitrógeno y



aeróbicas, el cual posee microelementos útiles para la fijación biológica de nitrógeno como FeSO_4 , en ellas las colonias de *Azotobacter* presentan una coloración crema, formas irregulares, brillantes, tamaño mediano y se observan bacilos Gram negativos, grandes y cortos (Holt, 2000). Forman quistes ante la carencia de nutrientes, el β – hidroxibutirato o cuando se degradan los polihidroxibutiratos o PHBs (Hitchins y Sadoff, 1973), por la presencia iones calcio en el medio de cultivo, siendo los quistes característica específica del género *Beijerinckia*.

Azotobacter puede detectarse por técnicas convencionales utilizando cuatro azúcares, fenol y benzoato como fuentes de carbono, la prueba de Nessler, la prueba de catalasa, la hidrólisis del almidón y la producción de 3- ácido indol acético (Tejera *et al.*, 2005), asimismo, su identificación molecular lo realizan mediante el ADNr 16S, a continuación, se realiza la amplificación con iniciadores FGPL y FGPS (Nour *et al.*, 1994). Farajzadeh *et al.* (2009), lograron un fragmento de 2,000 pb, que correspondería a los genes 16S y 23S, generalmente utilizados para el control de las cepas.

Para el secuenciamiento del ADN bacteriano de *Azotobacter vinelandii* se emplea la herramienta CAP contig en el software Bioedit, que se comparan con las secuencias genéticas del portal GenBank mediante el software BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (Zhang *et al.*, 2000). Los resultados del análisis filogenético indican que las bacterias aisladas se ubican en el clado de *Azotobacter vinelandii*, y en los restantes clados se encontrarían a *A. salinestrus* y *A. chroococcum*, los cuales poseen una estrecha relación con *Pseudomonas alcaligenes* (Fialho *et al.*, 1990).



2.2.2 Carga bacteriana en suelos

Para el Instituto Nacional Tecnológico (INATEC, 2007), un suelo es la capa superficial degradada que recubre la superficie terrestre, está constituido de material orgánico como organismos vivos, raíces, residuos vegetales y material inorgánico como las partículas rocosas, nutrientes, minerales primarios y secundarios, que caracterizan la sección sólida del suelo, a ello se unen el aire y el agua dentro de los vacíos intersticiales o poros. INATEC (2016), manifiesta que los factores pasivos que participan en la formación edáfica son el material parental, el clima, la vegetación, los organismos y el relieve, su color varía según sus componentes, como el contenido de humedad, grado de oxidación mineral y la materia orgánica presente.

La FAO (2015), promueve una consciencia con respecto al suelo en calidad de recurso limitado e imprescindible para la producción de cultivos vegetales. La producción del 95% de los alimentos se cultiva y produce directa o indirectamente en los suelos y que una gestión sostenible incrementaría en un 58% más alimentos suficientes, con ello se incrementaría el 60% de la demanda de alimentos, fibras y piensos, advertido por la FAO al llegar al año 2050, en que se piensa llegaremos a una población mundial de 9,000 millones. El manejo y producción sostenible del suelo agrícola en el mundo son imprescindibles para evitar la degradación de suelos de tal modo se garantice la seguridad alimentaria del presente y futuro del mundo (García et ál., 2020).

La carga microbiológica sirve de indicador del estado general de un suelo, en razón de que una elevada actividad microbiana refleja condiciones físicoquímicas óptimas para que los microorganismos (bacterias, actinomicetos, algas y hongos)



desarrollen sus procesos metabólicos, quienes poseen actividad catalítica en sustratos orgánicos y cultivos asociados; por lo tanto, constituye un indicador biológico muy útil para evaluar perturbaciones. Es altamente importante el desarrollo y el funcionamiento de un ecosistema terrestre y su fertilidad, ya que en ella se desarrolla los ciclos biogeoquímicos y la estructura de cada suelo (Ramos y Zúñiga, 2008).

La carga microbiana y sus productos metabólicos constituyen los componentes vivos del suelo y son parámetros para medir la fertilidad, a pesar de ello es difícil de realizar la evaluación en razón de la estructura compleja de comunidades que se encuentran en el suelo, que puede variar según el ecosistema y otros factores (Bitton, 1983). Los microorganismos pueden variar según los estímulos ambientales, siendo muy difícil evaluar los parámetros de efectos específicos ante un gran número de variables influyentes desconocidas o no constantes (Burton y Lanza, 1986).

La medición de CO₂ constituyen la estimación de la actividad y presencia microbiana, el cual puede variar según los factores como la mineralogía, el uso del suelo, cobertura vegetal, calidad de residuos, prácticas de manejo, factores ambientales, entre otros. Jenkinson (1992), menciona que los factores involucrados en la actividad microbiana, como la temperatura, humedad, pH, nutrientes inorgánicos, disponibilidad de oxígeno y accesibilidad al sustrato, influyen en la desintegración de la materia orgánica. Adicionalmente, se incluye a la actividad y estabilidad de las enzimas en el ecosistema terrestre es regulada por el pH (Dick et ál., 1988), la biomasa microbiana (Srivastava y Singh, 1991), las prácticas de manejo del suelo y de los cultivos (Kandeler y Eder, 1993), la vegetación (Tarafdar, 1987), la materia orgánica del suelo (Sparling et ál., 1986), los minerales de arcilla (Huang et ál., 1995) y el contenido de humedad del



suelo (West et ál., 1988).

La relación del sistema planta – suelo, puede alterarse por el estrés natural y por las labores que el hombre realiza, debido a que los microorganismos habitan en la rizosfera (Bethlenfalvay y Linderman, 1992). En esta zona muchos microorganismos ingresan a las células de una raíz, no dañándolas, donde sus hifas se logran extender en el suelo para establecer un contacto entre las raíces y los microorganismos, de tal modo que haya un enlace por donde circulan nutrientes desde el suelo a la planta y la transferencia de compuestos carbonados desde planta al suelo y luego a su microbiota (Read, 1993). La relación de un vegetal y los microorganismos rizosféricos presenta diferentes niveles, donde los microorganismos al ingresar a la planta pueden producir muchos efectos, entre benéficos y perjudiciales (Garza y Valdés, 2000).

La vegetación y sus exudados producidos por las raíces alteran las propiedades físicas y químicas de los suelos, como la porosidad, la estructura, el potencial redox y el pH, que influyen en la densidad y la actividad microbiana. La edad de cada planta también varía la flora edáfica, al parecer los microorganismos responderían a las secreciones radiculares que, a la materia en descomposición, asimismo, la forma de las raíces también modifica varias propiedades del suelo (IGAC, 1993). El arado posee un efecto muy intenso en las poblaciones bacterianas inmediatamente de realizar los surcos en el suelo, incrementando la carga microbiana entre 20 o 30 veces (Mora, 2006), debido a la modificación de la porosidad y el flujo de gases y agua por sus espacios vacíos, estimulando así la descomposición completa y rápida de la materia orgánica. Ante la presencia de agua la degradación de la materia orgánica está limitada a causa de que el oxígeno pueda llegar a los puntos con actividad microbiana (Paul y Clarck, 1989).



Las características biológicas de un suelo están muy relacionadas con la actividad biológica, pero dependerá de sus propiedades físicas. Las propiedades biológicas constituidas por los restos de origen vegetal y animal son materiales frescos e inertes, que ante la presencia de temperatura y humedad, están sujetos a la descomposición originada por macro y microorganismos terrestres, que participan de la desintegración y resintetización, liberando componentes inorgánicos y orgánicos en la composición nueva del suelo (García et ál., 2020). La materia orgánica como parte de las propiedades biológicas del suelo, posee las siguientes acciones benéficas en los suelos, entre ellas se citan:

1. Mantener a los nutrientes en forma intercambiable, en equilibrio rápido y fácil con la solución del suelo, vale decir posee una alta CIC.
2. Mejora las condiciones físicas como la textura, la porosidad y la estructura.
3. Incrementa la retención e infiltración de agua para disminuir los efectos de sequías, la percolación del agua y la aireación del suelo.
4. Aumenta la actividad biológica y la disponibilidad de los nutrientes (García et ál., 2020).

Los microorganismos también denominado microflora, son los componentes más importantes del suelo, son la parte viva y responsables del dinamismo de la transformación y el desarrollo. A mayor carga microbiana en el suelo se logra una mayor actividad enzimática y metabólica vegetal, incrementando su nutrición incrementando los rendimientos. La capacidad que tiene el suelo de transmitir y almacenar calor, es decir sus propiedades térmicas, influyen directamente en sus tasas de crecimiento y desarrollo. Las reacciones bioquímicas y los procesos enzimáticos del suelo, están influenciados por la temperatura terrestre. La retención de humedad, juega



un rol preponderante en el desarrollo y supervivencia de los organismos terrestres (García et ál., 2020).

2.2.3 Características de los suelos como campos de cultivo

El estudio terrestre es fundamental en el logro de una agricultura eficiente. Con la cartografía y la caracterización se puede lograr determinar el tipo de suelo presente, en qué situación están sus propiedades y los factores edáficos que limitan la producción agrícola (Hernández et ál., 2006), que se constituyen en el elemento más importante para llegar a una agricultura sostenible.

El contenido de la materia orgánica varía según la vegetación, el clima y la biología, que se origina en los suelos debido a la presencia de residuos vegetales, que son descompuestos por la actividad biológica. Dependiendo del tipo de vegetación y la actividad microbiana, será el contenido de materia orgánica en descomposición, pero en medios anaeróbicos se inhibe la actividad biológica por tanto no hay descomposición de la materia orgánica, acumulándose forma bruta, que originan a los histosoles. Por otro lado, en climas tropicales subhúmedos y húmedos la descomposición de restos vegetales es más acelerada que en climas fríos y templados. La materia orgánica en un suelo no solo es importante para la fertilidad sino también depende de propiedades como la densidad aparente, la aeración, la porosidad total, la retención de cationes, el coeficiente de dispersión de las partículas, la humedad, el contenido de nitrógeno, la actividad biológica, entre otros (Hernández et ál., 2010).

Según los valores de pH y los diversos suelos, se tiene la clasificación como suelos Ferralíticos Rojos, Fersialíticos y Pardos, tienen un pH óptimo desde neutro hasta



ligeramente ácido, los Eslitsoles son ligeramente ácido, los Ferralíticos Amarillentos y Gley son medianamente ácido y los Gley fuertemente gleyzados presentan valores de pH ácido y muy ácido (Bernal et ál., 2015). Los suelos arcillosos tienen un drenaje muy deficiente que aquellos de textura arenosa o limosa, esto se debería a la presencia de las esmécticas, los cuales su drenaje es poco adecuado, tal como ocurre con los Vertisoles, Gleysoles arcillosos y Eslitsoles (Hernández et ál., 1982). Mendoza et ál. (2013) afirma que la fertilidad del suelo resulta de sus características físicas, biológicas y químicas, que se caracteriza por brindar condiciones necesarias para el crecimiento y el desarrollo de las plantas.

Herrán et ál. (2008) plantean que al aplicar abonos orgánicos se aporta con nutrientes y es la base de la formación de múltiples compuestos que protegen la actividad microbiana, entre ellas los ácidos húmicos, los fúlvicos y huminas, mejorando la estructura del suelo, luego se forman agregados estables mejorando la permeabilidad de éstos, acrecienta la fuerza de cohesión en suelos arenosos, siendo mejor en suelos arcillosos, regula la retención de humedad del suelo y de agua, estimulando el desarrollo de plantas, disminuyendo la erosión producida por el escurrimiento superficial, mejora y regula la velocidad de infiltración del agua y eleva la capacidad tampón de los suelos. Acuña (2007) recomienda al encalado (aplicación de cal) para corregir el pH ácido del suelo, para crear un ambiente ideal de las raíces, este procedimiento mejora el efecto a la aplicación de fertilizantes en los suelos ácidos, ya que mejora sus condiciones físicas y químicas incrementando el desarrollo radicular.

ORGANICSA (2005) confía en la rotación de cultivos para un mejor aprovechamiento de los nutrientes terrestres, que al ser practicado con leguminosas se



incrementa el suelo con nitrógeno debido a la simbiosis de las bacterias fijadoras de nitrógeno y las raíces, permitiendo el mayor aprovechamiento del espacio, originando una excelente cobertura y se constituye en un gran método de control biológico de plagas y enfermedades. Por su parte, la FAO (2015) que los principales nutrientes vegetales son el nitrógeno, potasio, fósforo, magnesio y calcio, donde los 3 primeros los requieren en mayores concentraciones. La producción de cosechas de los cultivos está condicionada por factores bióticos y abióticos (propiedades físicoquímicas de los suelos), siendo el pH que afecta a todos los cultivos, ya que influye en la movilidad, solubilidad y disponibilidad de los nutrientes del suelo.

Campos (2007) afirman que la fracción orgánica en un suelo representa al 5% y lo conforman los compuestos biológicos presentes, donde los tejidos vegetales y de animales muertos en diferentes estados de descomposición son considerados como materia orgánica y contiene carbono, oxígeno, hidrógeno y nitrógeno, adicionalmente fósforo, aluminio, azufre, hierro, silicio entre otros microelementos en cantidades muy pequeñas. Par el INTAGRI (2018) el nitrógeno es un macroelemento esencial terrestre que garantizar un buen desarrollo de los cultivos, que como parte de las sales presentes en un suelo determina su calidad y fertilidad, su importancia radica en que reducen el potencial osmótico del suelo, disminuyendo la necesidad de agua en las plantas, a pesar de que la humedad esté presente en el suelo, la salinidad se mide mediante la conductividad eléctrica (CE).

La CE viene a ser la capacidad que tiene el suelo para conducir corriente eléctrica mediante el aprovechamiento de las sales, por tanto, representa la concentración de sales solubles presentes en el suelo. Los suelos que poseen valores altos de CE (mayor a 1000



$\mu\text{S}/\text{cm}$) dificultan el desarrollo de los cultivos, mientras que valores menores a los 500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ inducen un buen desarrollo (García et ál., 2020). El fósforo es otro macronutriente importante en los cultivos, en razón de que participa en la respiración, la fotosíntesis y la transferencia de energía en la fisiología de la división y el crecimiento de células vegetales, también promueve la formación precoz y el crecimiento de las raíces mejorando la calidad de verduras, cereales y frutas. Su concentración (P) es mayor en la semilla que en otro órgano vegetal (INATEC, 2016).

El potasio (K) es otro macronutriente esencial para el crecimiento vegetal, interviene en varias reacciones y procesos metabólicos, ayuda en el uso eficiente del agua, es importante para la calidad y la formación de frutos, ayuda a la resistencia frente a las enfermedades, fortalece tallos ante la presencia de patógenos e incrementa el grosor de la cutícula de los cereales ante el ataque de hongos (INATEC, 2016). El aluminio (Al) es el elemento más limitante de la productividad y crecimiento vegetal en suelos ácidos, origina toxicidad afectando el funcionamiento y la estructura del plasmalema, la nutrición mineral y su metabolismo en general (Rivera et ál., 2016). En suelos con valores de pH menores a 5, el Al perjudica al solubilizarse en formas iónicas generando toxicidad vegetal, la corteza terrestre tiene más del 15 % de óxido de aluminio (Al_2O_3), el cual valores de pH neutro o alcalino es muy poco soluble por tanto no logra concentraciones tóxicas para las plantas, pero al bajar el pH incrementa su solubilidad (INTAGRI, 2018).

2.2.4 Inoculaciones bacterianas en semillas y plantas

Los microorganismos promotores del crecimiento de las plantas ofrecen múltiples ventajas, muchos proporcionan la mejor nutrición vegetal mediante mecanismos directos o indirectos (Richardson et ál., 2009), como promover el crecimiento vegetal mediante la



producción de fitohormonas (giberelinas y auxinas) o la regulación de la biosíntesis de promotores de crecimiento vegetal, asimismo, aumenta la resistencia a los factores ambientales, induciendo o suprimiendo la expresión de genes relacionados a la adaptación ambiental (Tsavkelova et ál., 2006), también logran afectar la disponibilidad de nutrientes por medio de los ciclos biogeoquímicos como la solubilización de fosfatos gracias a la liberación de fosfatasas, ácidos orgánicos y la fijación biológica de nitrógeno (Camelo et ál., 2011).

Entre los mecanismos indirectos de promoción del crecimiento de las plantas se citan la interacción de microorganismos benéficos con los fitopatógenos disminuyendo los daños en la planta (Díaz et ál., 2001), la producción y secreción de sideróforos, que secuestran el hierro (Fe) disponible a nivel de la rizosfera previniendo la proliferación de patógenos vecinos, también producen compuestos antimicrobianos que logran inhibir el crecimiento (Ongena et ál., 2005) e hidrolizan la pared celular fúngica patógena, como el ácido fusárico que es producida por plantas infectadas con *Fusarium* (Sarabia et ál., 2010).

Se han inoculado las bacterias en semillas, tubérculos o raíces, colonizando las raíces y estimular el crecimiento y rendimiento vegetal (Chanway et ál., 1989). Los microorganismos poseen efectos directos o indirectos, entre los directos se citan al aumento de la movilización de nutrientes solubles y la mejora de la absorción de las plantas (Lifshitz et ál., 1987), la producción de antibióticos para la supresión de hongos, bacterias y partículas virales (Hoffland et ál., 1997) y fitohormonas (auxinas, citocininas, giberelinas y etileno) (Chanway, 1997). Entre los indirectos están el incremento de la fijación de nitrógeno (N), aumentando el número de nódulos radiculares de la raíz (Zhang



et ál., 1996), induciendo a una resistencia sistémica a la planta (Chanway, 1997).

Existen muchas bacterias de vida libre o simbióticas que fijan N, pero pocas destacan como biofertilizantes o estimulantes del crecimiento vegetal, como los géneros *Azotobacter*, *Derxia*, *Beijerinckia* y *Azospirillum*, entre las aeróbicas; *Enterobacter*, *Bacillus* y *Pseudomonas* entre aerobias facultativas y los géneros *Metanobacterium*, *Desulfovibrio* y *Clostridium* como anaeróbicos (Rodríguez, 1995). Su mayoría interactúa con la rizosfera (zona alrededor de una raíz influenciada por el metabolismo), siendo diferente al resto de la zona edáfica, al poseer gran variedad de sustancias como aminoácidos, carbohidratos, ácidos orgánicos, derivados de ácidos nucleicos, enzimas, factores de crecimiento que de forma directa o indirectamente influyen positiva o negativamente en los microorganismos de ese hábitat (Ferrera, 1995).

Los géneros *Azospirillum* y *Azotobacter* ingresan a la corteza de la raíz y sintetizan fitohormonas como auxinas (ácido indolacético), giberelinas, citoquininas, ácido absícico y también fijan N (Lynch, 1990), estimulando el crecimiento, el incremento de raíces laterales y los pelos radicales que favorecen la absorción de nutrientes (De Freitas y Germida, 1992) incrementando las cosechas (Bashan et ál., 1993). Muchas especies de *Pseudomonas* aumentan la absorción de N, P y K, biocontrolan hongos fitopatógenos y biosintetizan fitohormonas a nivel radicular, promoviendo así el mayor crecimiento vegetal. *Pseudomonas fluorescens* promueve el crecimiento vegetal, mediante la producción de sideróforos extracelulares que retienen óxidos férricos y los convierten en formas solubles y disponibles para raíces, asimismo aumenta la biomasa radical (Peter et ál., 1987).



Las sales inorgánicas de fósforo $[Ca_3(PO_4)_2]$ que son insolubles en el suelo no se encuentran disponibles para las plantas, ante ello los microorganismos los solubilizan en fosfatos di y monobásicos, los cuales son asimilables para las raíces, entre estas bacterias se tienen los géneros *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus* y *Flavobacterium* (Salih et ál., 1989). La aplicación de consorcios microbianos promotores del crecimiento vegetal en formulaciones líquidas conformadas por bacterias *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus* sp y *Streptomyces fradiae*, evidenció un incremento en los parámetros productivos del girasol como en el tamaño de las flores, aumento del número de semillas, del peso de la flor y en peso de las semillas (Srinivasan y Mathivanan, 2009). Por lo tanto, la inoculación de microorganismos con capacidad de estimular el crecimiento vegetal es de gran interés para la producción de bioinsumos, tal es el caso de la inoculación de *Azotobacter* sp, *Bacillus licheniformis* y *Bacillus pumilus* en la producción de rábano (*Raphanus sativus*), donde la fórmula bacteriana no mostró buenos resultados en la producción radicular; sin embargo al ser aplicados individualmente los resultados fueron promisorios a tiempos cortos de crecimiento (Sotelo et ál., 2012).

2.2.5 Cebolla (*Allium cepa* L.)

a. Taxonomía

La cebolla está ubicada en la siguiente clasificación taxonómica:

Reyno	: Vegetal
División	: Magnoliophyta
Clase	: Liliopsida
Orden	: Asparagales
Familia	: Amaryllidaceae



Subfamilia	: Allioideae
Tribu	: Allieae
Género	: <i>Allium</i>
Especie	: <i>Allium cepa</i> L. (León, 2003).

La cebolla, es una monocotiledónea herbácea y bienal, se cultiva como planta anual, pertenece a la familia Alliaceae. El bulbo es utilizado como alimento y condimento, por su sabor, textura y olor. Se les atribuyen propiedades medicinales especialmente antibacteriales (Fornaris, 2012).

b. Descripción botánica

- **Raíces.** Posee un sistema radicular discreto y una pobre capacidad de absorción, seguido a la germinación, la raíz primaria lo produce la plántula mediante la radícula. Las siguientes raíces se forman desde el tallo verdadero y son raíces adventicias (Fornaris, 2012).
- **Tallo.** Se encuentra localizado en la base del bulbo, es corto, achatado y comprimido, a partir del cual brotan hojas, raíces y yemas. Las vainas en conjunto forman el pseudotallo o 'falso tallo' de la planta, del cual emergen láminas de hojas nuevas (Fornaris, 2012).
- **Hojas.** Crecen opuestas entre sí y alternadamente desde el meristemo apical del tallo, tienen una superficie cerosa, conformadas por una lámina y la vaina. Las divisiones celulares en la hoja ocurren en su base (Fornaris, 2012).
- **Bulbo.** Consiste en un tallo corto envuelto por hojas modificadas engrosadas, y carnosas, es un tipo de bulbo tunificado y ante un corte transversal se observa la disposición de escamas en capas o túnicas. La base en cada hoja se termina



convirtiéndose en una escama del bulbo, en tal sentido el tamaño final del bulbo dependerá del número de hojas que estarán presentes en el momento del inicio de la formación del bulbo (Fornaris, 2012).

2.2.6 Variables de crecimiento vegetal

a. Longitud de raíces

Las raíces y su crecimiento están determinados por la capacidad que poseen de elongarse a profundidad para explorar el suelo (Russell, 1992), gracias a que les permite obtener agua y nutrientes que puedan ubicarse en estratos terrestres profundos (Martínez et ál., 2009). Su densidad radicular es un indicador de la tolerancia y resistencia a las condiciones de sequía y les permite expresar su potencial de producción de biomasa seca (Haqqani y Pandey, 1994). El crecimiento radicular es afectado por las condiciones ambientales donde se desarrolla la planta y ante un buen crecimiento de las raíces, sugiere que la planta posee una gran capacidad de explorar el suelo y lograr absorber agua y nutrientes (Bland, 1993).

b. Altura

Al incrementarse la altura es representado por el crecimiento de una planta que es el reflejo de muchos cambios estructurales de tamaño, forma y peso específicos, y ocurren según los patrones de división celular y diferenciación, que son influidos por el contexto ambiental. El crecimiento de una planta puede ser afectado por la densidad de la población, el suministro de agua y nutrientes y la intercepción de radiación solar, debido a que está relacionado con los eventos fisiológicos que alteran la producción y la acumulación de materia seca en los



diferentes órganos (Rodríguez, 2000).

El crecimiento vegetal es un aumento irreversible del tamaño del organismo, donde a nivel fisiológico se desarrollan una serie de cambios y reacciones bioquímicas, todo ello dependerá del comportamiento agronómico y el rendimiento potencial de los genotipos. El crecimiento se evalúa mediante la altura de la planta, número de hojas, área foliar, diámetro del tallo, biomasa seca y de forma indirecta se tienen la tasa de asimilación neta, tasa relativa de crecimiento y la tasa de crecimiento del cultivo y todos estos procedimientos están asociados a los factores ambientales como luz, humedad y temperatura y humedad (Salisbury y Ross, 1994).

c. Peso total

La medida del peso de la planta se determina mediante mediciones como la acumulación de peso, los cambios en el área foliar y las variaciones en altura o diámetro. Cuando las células se encuentran en alta turgencia, la determinación del peso fresco o húmedo estima el volumen de agua, ya que el agua es el principal componente de órganos y tejidos. Es clásico determinar el crecimiento mediante la acumulación del peso seco que incluye las variaciones del contenido porcentual de materia seca. En tal sentido el análisis de crecimiento en realidad es analizar la fijación y la partición del carbono (Di Benedetto y Tognetti, 2016). La biomasa seca que se acumula en una planta al inicio se incrementa en una tasa exponencial, luego se realiza linealmente y finalmente decrece (Poorter, 2002).



d. Grosor de tallos

La longitud del tallo crece formando los órganos laterales (ramas, flores, hojas y frutos), y también crece en grosor, el cual puede ser mediante un crecimiento primario o secundario. En el crecimiento primario se observa un crecimiento en longitud y de su grosor, dependiendo de los meristemas apicales e intercalares. En el crecimiento secundario de los tallos, el crecimiento en grosor se origina gracias a los meristemas cámbium vascular y felógeno. Las plantas en general presentan crecimiento primario, principalmente las monocotiledóneas en su mayoría, sin embargo, las dicotiledóneas y todas las gimnospermas tienen tallos que primero tienen un crecimiento primario pasando luego al secundario (Tasaka et ál., 1999).

e. Diámetro de bulbo

El bulbo de la cebolla es la parte principal comestible de la cebolla, su crecimiento está influenciado por la longitud del día, la variedad y la temperatura (Brewster, 2008). En el crecimiento del bulbo de la cebolla se tiene la influencia del fotoperiodo que es afectado por la calidad y la intensidad de la luz, en razón de que la luz infra roja y fuertes intensidades de luz favorezcan el desarrollo del bulbo (Bertaud, 1986). Cuando disminuye la duración del día, la intensidad de la luz baja y es percibida por las hojas enviando señales a otras regiones vegetales con lo que se da inicio a la dormancia (Chope et al., 2012). Por lo tanto, existe un efecto combinado del fotoperiodo y la temperatura que inducen a la formación de los bulbos de la cebolla (Tesfay et al., 2011).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ZONA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en la zona de la región altitudinal Suni del departamento Puno ubicada a 3410 msnm, que estuvo conformada por tres campos de cultivos andinos ubicados en las provincias de San Román, lampa y Puno la investigación tuvo un lapso de tres meses consecutivos, diciembre, enero y febrero del 2019 al 2020 que posteriormente las muestras de suelo obtenidas fueron trasladadas a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano situada en el departamento Puno con las coordenadas de latitud sur $15^{\circ}49'27.2''$ y $70^{\circ}00'57.8''$ longitud oeste.

Estas muestras de suelo tuvieron valores fisicoquímicos de pH y conductividad eléctrica con valores promedios de 6.7 y 550 $\mu\text{S}/\text{cm}$ respectivamente, se aislaron las bacterias *Azotobacter* sp para la previa inoculación en las plántulas de cebolla (*Allium cepa*), que se ejecutó en el laboratorio de Botánica y Biotecnología de la ciudad universitaria. Las características de los tres campos de cultivo se detallan a continuación:

- **Comunidad Unocolla.** Se ubica en el distrito de Juliaca, provincia San Román, región Puno (Perú), región altitudinal Suni en las coordenadas $15^{\circ}25'55.45''$ latitud Sur y $70^{\circ}11'25.81''$ longitud Oeste. Es una zona poco arcillosa con una laguna a una distancia aproximada de 40 m, su población realiza actividades de agricultura sembrando papa, oca y habas principalmente, escasamente crían la ganado vacuno y ovino, su idioma nativo es el quechua. Presenta lluvias por temporadas, en ocasiones se incrementa el nivel de la laguna inundando las

cosechas.

- **Comunidad Chañohagua.** Se ubica en el distrito y provincia de Lampa, región Puno (Perú), región altitudinal Suni en las coordenadas $15^{\circ}23'10.88''$ latitud Sur y $70^{\circ}15'6.69''$ longitud Oeste. Es una zona arcillosa y poco arenosa, posee una población reducida y dedicada a la agricultura con cultivos de papa y habas principalmente, crianza de animales como el ganado vacuno y ovino, idioma nativo quechua, y presenta lluvias según temporadas.
- **Comunidad Silluniamaya.** Se ubica en el distrito de Acora, provincia Puno, región Puno (Perú), región altitudinal Suni, en las coordenadas $15^{\circ}59'0.72''$ latitud Sur y $69^{\circ}47'15.18''$ longitud Oeste. Es una zona arenosa con presencia de tierra negra siendo un suelo mixto y de buena calidad para la siembra, su población se dedica al cultivo de papa, oca, quinua, cebada, trigo y alfalfa y la crianza de ganado vacuno y ovino, idioma nativo el Aymara. No presenta riesgo de inundación ni sequía ya que presenta lluvias según temporadas.

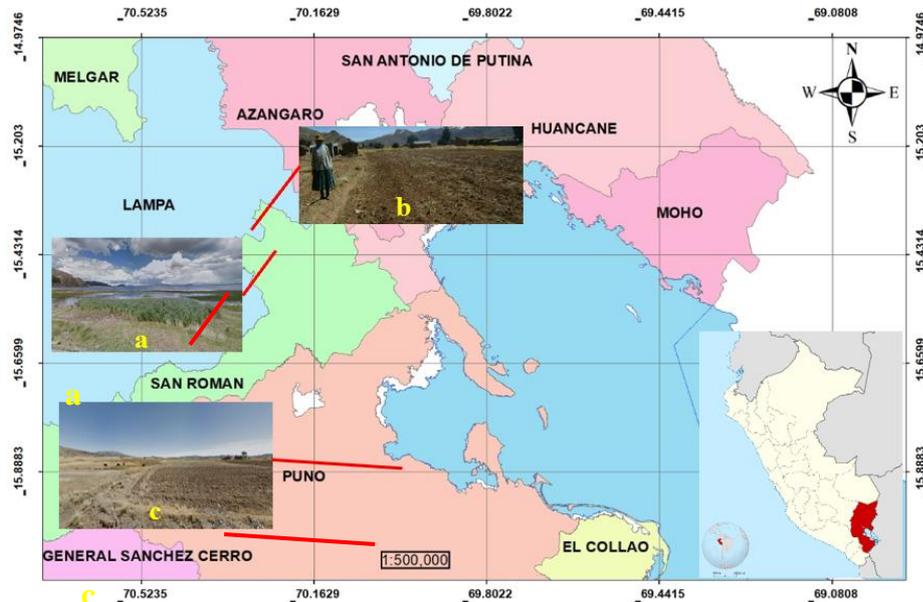


Figura 1. Zonas de muestreo de campos de cultivo Unocolla (a), Chañohagua (b) y Silluniamaya (c) en tres provincias de la región Puno.



3.2 TIPO DE ESTUDIO

La investigación, es un estudio descriptivo experimental de corte transversal, en razón de que la carga bacteriana de *Azotobacter* sp, fue representada en los recuentos bacterianos en placas Petri, se realizó los análisis estadísticos e interpretación de los mismos con antecedentes y el marco teórico. Experimental en razón de que se aplicaron tres concentraciones bacterianas de *Azotobacter* sp, las cuales fueron obtenidas mediante el estándar McFarland y el crecimiento e incremento de parámetros biométricos en las plántulas de cebolla. De corte transversal, en razón a que los resultados se obtuvieron entre los meses de diciembre del año 2019 a febrero del año 2020.

- **Muestreo:** Se efectuó durante los meses de diciembre enero y febrero del 2019 al 2020, se recolectaron muestras de 200g de suelo rizosférico de cultivos de papa, oca, habas, alfalfa, quinua, cebada y trigo en campos agrícolas de las **Comunidades Unocolla** (15°25'55.45" latitud Sur y 70°11'25.81" longitud Oeste), **chañohahua** (15°23'10.88" latitud Sur y 70°15'6.69" longitud Oeste) y **Silluniamaya** (15°59'0.72" latitud Sur y 69°47'15.18" longitud Oeste). Las zonas de muestreo presentaron un clima frío, moderadamente lluvioso y con amplitud térmica moderada con una temperatura media de 14° - 17 °C. Las muestras que se tomaron y se depositaron en frascos de vidrio estéril para su procesamiento en el laboratorio de la FFCCBB.



3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 Evaluación de la carga bacteriana de *Azotobacter* sp en tres campos de cultivo de los distritos de Juliaca (comunidad Unocolla), Lampa (comunidad Chañohagua) y Puno (comunidad Silluniamaya).

a. Fase pre analítica

Las muestras de suelo fueron colectadas quincenalmente, durante tres meses (Diciembre, enero y febrero del 2019 al 2020) de las comunidades campesinas (cc) de muestreo, para la determinación de las poblaciones de bacterias, se tomó en frascos esterilizados de vidrio, luego fueron tapados con papel aluminio y se cerraron con la tapa con rosca, se preservaron en campo en una caja transportadoras de muestras junto con hielos (Córdova *et al.*, 2009), finalmente fueron transportados al laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno.

b. Fase analítica

Cuantificación de bacterias diazótrofes

La evaluación de la densidad de poblaciones de bacterias diazótrofes en suelos se realizó mediante el método de conteo viable de células vivas por siembra en superficie (Madigan *et al.*, 2004), utilizando diluciones seriadas con base en 10, diluyendo 10 g de suelo en 90 ml de agua estéril (10^{-1}), hasta llegar a la dilución 10^{-7} , con una pipeta automática se tomó 0.1 ml de cada dilución y se colocó en el centro de la placa Petri con medios de cultivos sólidos específicos como el medio Ashby o medio mineral sin nitrógeno conformado por 5 g de manitol, 5 g K_2HPO_4 , 0.2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5 g NaCl, 0.1 g K_2SO_4 , 5 g $CaCO_3$, 15 g de agar y 1 litro de agua destilada, ajustado a un pH de 7.0



(Rao, 1999), donde se distribuyó con una espátula de Digralsky previamente embebida en alcohol y flameada al mechero para su esterilización. El procedimiento se realizó por triplicado (Camacho, 2014). El conteo de células viables se efectuó en un contador de colonias, contabilizando las unidades formadoras de colonias (UFC) que crecieron en la superficie del medio de cultivo de la placa Petri, luego se transformó a UFC/g de suelo seco.

Variables analizadas

Variable independiente: Suelos de las cc de tres distritos Juliaca, Lampa y Puno.

Variable dependiente: Recuentos de colonias de *Azotobacter* sp.

c. Fase post analítica

Cada resultado obtenido de los recuentos bacterianos de los suelos de las 3 zonas de muestreo presentó tres repeticiones que fueron tabulados y previamente analizados mediante el promedio y el coeficiente de variación, a continuación, se aplicaron pruebas de análisis de varianza y de Tukey, con un nivel de confianza del 95% (De la Garza *et al.*, 2013). Los análisis estadísticos se realizaron en el software estadístico de acceso libre Jamovi.

3.3.2 Evaluación del efecto de la inoculación de bacterias *Azotobacter* sp en la longitud de raíces, altura, peso total de plántula, grosor de tallo y diámetro de bulbo en plántulas de cebolla en condiciones de laboratorio.

a. Fase pre analítica

Para determinar el efecto de la inoculación de bacterias *Azotobacter* sp,



previamente se prepararon las macetas, los materiales como algodón para realizar los cultivos, asimismo se prepararon las diluciones McFarland. Todos los experimentos tuvieron 3 repeticiones y se realizaron en el laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno.

b. Fase analítica

Preparación de inóculo de bacterias *Azotobacter* sp. A partir de las placas donde se presentó el crecimiento microbiano de *Azotobacter* sp, fueron repicadas o subcultivadas en agar TSA a 28 °C por 48 horas y con la biomasa desarrollada se obtuvo suspensiones en solución salina estéril cuya concentración se estandarizó a 1.5, 3 y 6 x 10⁸ células/ml mediante la escala de McFarland.

Inoculación, de las raíces de cebolla. Las plántulas de cebolla denominadas en la región de Puno como “marqueras”, fueron adquiridas en el mercado Santa Bárbara de la ciudad de Juliaca, las mismas que tuvieron una longitud entre 5 a 8 cm inicialmente.

La inoculación con bacterias *Azotobacter* sp de las plántulas de cebolla se realizó sumergiendo el bulbo de cada plántula en grupo dentro del volumen de 1 litro de suspensión de *Azotobacter* sp, durante 30 min. El tratamiento control se realizó empleando la solución de suero fisiológico (0.85%) y sacarosa al 10% sin *Azotobacter* sp (Aycaya, 2012). Las plántulas fueron traspasadas a frascos de plástico, los bulbos de cebolla fueron cubiertas con algodón previamente esterilizado, y humedecida en forma interdiaria con solución hidropónica de macro y micronutrientes (La Molina), el cual fue adquirido de la Red de Hidroponía de la Universidad Agraria La Molina de Lima.



Evaluación del índice de evaluación de inoculación (IEI) (Escobar *et al.*, 2011).

Transcurridos 60 días después de la siembra, se extrajo las plantas, en ellas se determinaron los siguientes parámetros biométricos: la longitud de raíces, altura y peso total de plántula, grosor de tallo y diámetro de bulbo. El IEI se calculó con la siguiente ecuación:

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

Variables analizadas

Variable independiente: Concentración bacteriana de *Azotobacter* sp.

Variable dependiente: Parámetros biométricos de las plántulas de cebolla (*Allium cepa*)

c. Fase post analítica

Todo resultado obtenido de los parámetros biométricos (longitud de raíces, altura de planta, grosor de tallo, diámetro de bulbo y peso total de la planta) de las plantas con respecto al control, fueron tabulados y previamente analizados mediante promedios y coeficiente de variación, a continuación, se aplicaron pruebas de análisis de varianza y de Tukey, con un nivel de confianza del 95%. Los análisis estadísticos se realizaron en el software estadístico de acceso libre Jamovi.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARGA BACTERIANA DE *Azotobacter* sp EN TRES CAMPOS DE CULTIVO DE COMUNIDADES DE LOS DISTRITOS DE JULIACA (UNOCOLLA), LAMPA (CHAÑOHAGUA) Y PUNO (SILLUNIAMAYA)

Los recuentos de *Azotobacter* sp se presentan en la Tabla 1, donde las muestras de tierra colectadas del mes de diciembre 2019 en los tres campos de cultivo variaron entre 53×10^6 UFC/g de suelo en la comunidad de Unocolla seguidamente la comunidad de Chañohagua tuvo un recuento de 45×10^6 UFC/g y la comunidad de Silluniamaya presentó 53×10^6 UFC/g de suelo; en enero 2020 el menor recuento de colonias se registró en la comunidad de Unocolla con 43×10^6 UFC/g mientras el mayor recuento se encontró en Chañohagua con 48×10^6 UFC/g y la comunidad de Silluniamaya presentó un recuento de 46×10^6 UFC/g; el mes de febrero 2020, el menor recuento bacteriano se determinó en las comunidad de Unocolla con 43×10^6 UFC/g y Chañohagua con 45×10^6 UFC/g, siendo mayor el recuento en la comunidad de Silluniamaya con 63×10^6 UFC/g de suelo.

En el mes de diciembre 2019, las tres repeticiones (R1, R2 y R3), variaron entre 45×10^6 UFC/g, 52×10^6 UFC/g y 54×10^6 UFC/g en las repeticiones 1, 2 y 3 respectivamente; por otra parte, durante el mes de enero 2020 se contabilizaron recuentos de 47×10^6 UFC/g, 42×10^6 UFC/g y 48×10^6 UFC/g de suelo, siendo menor en la repetición 2 y el mayor en la repetición 3; y en el mes de febrero 2020 los recuentos bacterianos fluctuaron entre 54×10^6 UFC/g, 44×10^6 UFC/g y 53×10^6 UFC/g de suelo, en dichos valores se determinó el menor en la repetición 2 y la mayor en la repetición 1. (Tabla 1).

Tabla 1. Recuentos de colonias de *Azotobacter* sp en tres campos de cultivos (Unocolla, Chañohagua y Silluniamaya).

Comunidades	Recuentos bacterianos ($\times 10^6$ UFC/g suelo)											
	Diciembre 2019				Enero 2020				Febrero 2020			
	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}	R1	R2	R3	\bar{X}
Unocolla	51	47	60	53	39	42	47	43	40	47	43	43
Chañohagua	41	60	35	45	52	37	56	48	59	31	44	45
Silluniamaya	64	55	41	53	50	47	42	46	64	55	71	63
\bar{X}	52	54	45	--	47	42	48	--	54	44	53	--

Prueba de Shapiro – Wilk: $p = 0.170$

Prueba de Levene = 0.064

Análisis de varianza: $F = 4.07$; $p = 0.039$

Previo a la elección de la prueba estadística paramétrica, los resultados de los recuentos de *Azotobacter* sp en suelos de los campos de cultivo de tres comunidades, fueron analizados con las pruebas de Shapiro – Wilk y Levene, donde resultaron con valores de 0.170 y 0.064 respectivamente (Figura 22 - Anexos) y el gráfico Q-Q plot (Figura 23 - Anexos), indican que los datos de los recuentos cumplen con los supuestos de normalidad de datos para realizar la prueba paramétrica de análisis de varianza, resultando este con un valor F calculado de 4.07 y un valor p de 0.039, lo cual indica que los recuentos de *Azotobacter* sp presentaron diferencia estadística entre las zonas de muestreo.

Adicionalmente la prueba de Tukey (Figura 22 - Anexos) manifiesta que los recuentos bacterianos de las comunidades de Unocolla y Chañohagua no presentan diferencia estadística significativa; los recuentos entre las comunidades Unocolla y Silluniamaya ($p = 0.044$) y entre las comunidades de Chañohagua y Silluniamaya ($p =$

0.042) si presentaron diferencia estadística significativa, tal como se puede visualizar en la Figura 3.

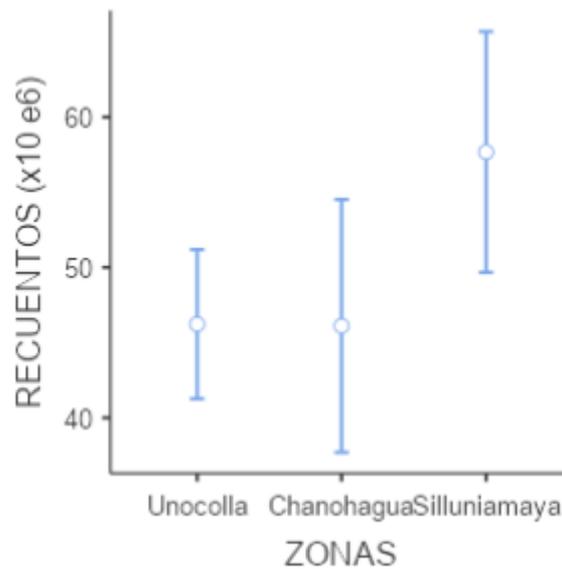


Figura 2. Comparación los recuentos de *Azotobacter* sp en campos de cultivo de tres comunidades de la región Puno.

Cada resultado mensual de recuentos de *Azotobacter* sp en suelos de los campos de cultivo de las tres comunidades, presentaron valores de pruebas de Shapiro – Wilk y Levene de 0.939 y 0.107 respectivamente (Figura 24 - Anexos) y el gráfico Q-Q plot (Figura 25 - Anexos), los cuales indican que cumplen con los supuestos de normalidad de datos, y el análisis de varianza resultó con un valor F calculado de 1.79 y un valor p de 0.202. Estos resultados revelan que los recuentos de *Azotobacter* sp no presentaron diferencia estadística entre meses de muestreo, pero comparando numéricamente los recuentos de *Azotobacter* sp fueron mayores en el mes de diciembre 2019 y menor en el mes de enero 2020 (Figura 3).

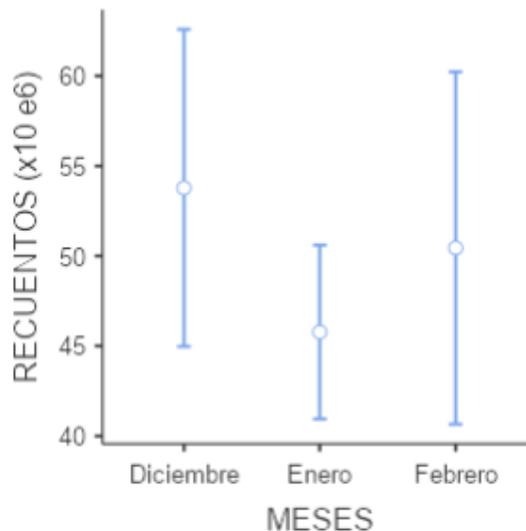


Figura 3. Comparación de los recuentos de *Azotobacter* sp según los meses de muestreo en tres comunidades de la región Puno.

Los recuentos bacterianos de *Azotobacter* sp en los campos de cultivo evaluados variaron entre 43×10^6 UFC/g suelo, promedio ubicado en la comunidad de Unocolla durante los meses de enero y febrero 2020 y 63×10^6 UFC/g suelo, promedio determinado en la comunidad de Silluniamaya en el mes de febrero 2020, siendo el menor y el mayor promedio respectivamente. Los resultados obtenidos en la investigación fueron superiores a los obtenidos por Córdova *et al.* (2009) quienes en Tabasco (México), en suelos de banano, obtuvieron recuentos de *Azotobacter* de 11×10^5 UFC/g de suelo seco, por otro lado Goitia (2014) en Puno (Perú), cuantificó la carga diazotrófica de bacterias mediante el método del número más probable, obtuvo suelos con cargas de bacterias diazotróficas >2100 NMP/g suelo, que a pesar de ser otra forma de cuantificar bacterias, manifiesta una alta carga bacteriana de *Azotobacter* sp.

La presencia de *Azotobacter* sp en menor y mayor grado en los suelos de las tres comunidades evaluadas, se debería a las condiciones fisicoquímicas que poseen, tal como lo cita Calvo & Zúñiga (2010), en Puno (Perú), quienes aislaron bacterias de la cepa de



Bacillus spp a partir de la rizosfera de papa (*Solanum tuberosum*) los cuales presentaron valores promedios de pH de 6.25 ± 0.13 , una conductividad eléctrica de 0.46 dS/cm, un contenido de materia orgánica de 2.64%, fósforo de 20.195 ppm, un suelo de clase textural franco arenoso, y una temperatura de 10 °C, dichos factores fisicoquímicos favorecería la presencia de bacterias en los suelos. Por otro lado, Ramos y Zúñiga (2008), determinaron que la mayor actividad microbiana se obtuvo cuando los suelos presentaron 18% de humedad, una temperatura de 27.5 °C y el pH óptimo cercano a la neutralidad (7.8). En la investigación los únicos valores fisicoquímicos fueron el pH y la conductividad eléctrica con valores promedios de 6.7 y 550 μ S/cm respectivamente, los cuales se asemejan a las condiciones favorables para el crecimiento bacteriano especialmente en suelos de la comunidad Silluniamaya, donde se encontró los mayores recuentos promedio, por otro lado los campos de cultivo evaluados en la investigación presentaron las mejores condiciones de cultivo, en razón de que en dichos campos de cultivo se obtuvieron buenas cosechas en la última campaña agrícola, tal como indicaron mediante comunicación personal los agricultores de la zona.

Cada recuento de las bacterias *Azotobacter* sp en los suelos de las comunidades de Unocolla y Chañohagua inferiores estadísticamente frente a los recuentos en suelos de la comunidad de Silluniamaya, se debería al porcentaje de humedad bajo que poseería, ya que este parámetro disminuye la actividad microbiana y por tanto su supervivencia, llegando a cesar la actividad microbiana cuando el potencial hídrico presenta valores muy negativos (Jenkinson, 1992), mientras tanto en la comunidad Silluniamaya los mayores recuentos de *Azotobacter* sp indicarían que los suelos presentaron valores de humedad que favorecieron sus altos recuentos, debido probablemente a que se encuentra al nivel



del lago, manteniendo su humedad durante todo el año, aunado a ello la presencia de lluvias en los meses de diciembre, enero y febrero.

El pH promedio de 6.7 obtenido de los tres campos de cultivo está relacionada con la fertilización con materia orgánica como el humus que posee grupos funcionales entre ellos los carboxílicos, fenólicos, entre otros y la aplicación de sustancias químicas quienes poseen algunos componentes que logran variar el pH de los suelos (Sadeghian y Adriana, 2014). Según Ibáñez (2007) indica que el pH óptimo de los suelos para el crecimiento de las plantas varía de 6 a 7 siendo moderadamente ácidos a neutros, e inclusive con un pH de 8 se obtienen buenos rendimientos agrícolas y en estos rangos las sustancias nutritivas se encuentran dispersos en el suelo a disposición de las plantas. Por lo tanto, los suelos evaluados presentarían valores de pH apropiados para el desarrollo de las plantas y se diferenciará según los parámetros de materia orgánica, humedad, entre otros parámetros.

Se obtuvo bajos recuentos bacterianos en las comunidades de Unocolla y Chañohagua, probablemente a que los valores del pH de sus suelos fueron menores a los óptimos para las plantas, a causa de una sobredosificación con fertilizantes, adicionan abonos o sustancias químicas para el control de plagas, que desencadena una acidificación del suelo (IIFT, 2011). Asimismo, los recuentos de *Azotobacter* sp fueron similares entre los meses de diciembre, enero y febrero, que tendría como causa que son meses lluviosos y origina la mayor presencia de cobertura vegetal, consecuentemente se acumula los residuos orgánicos que son transformados en materia orgánica, lo que estaría estabilizando la variación del pH (Corbella y Fernández, 2010).



Como los tres meses de muestreo de la investigación fueron temporadas de lluvia, la actividad agrícola se incrementó y el crecimiento de las plantas disminuyen los valores de materia orgánica, ya que el suelo se airea y los residuos sólidos se desmenuzan, como consecuencia de ello la descomposición microbiana es que fue similar en el tiempo de evaluación (Corbella y Fernández, 2010). Las abundantes precipitaciones apresuran el proceso de descomposición de la materia orgánica, provocando un alto rendimiento de materia orgánica en los campos evaluados (Rosas *et al.*, 2016). La presencia de bacterias diazotróficas incrementan el contenido de N a causa de la interacción específica entre los microorganismos y el suelo originando impacto en la producción agrícola, gracias a la fijación biológica de N, donde el nitrógeno atmosférico (N_2) se transforma en amonio (NH_4) y nitratos (NO_3) y este último se asimilado por las plantas (Cerón y Aristizábal, 2012).

Los suelos evaluados en la investigación presentan bacterias *Azotobacter* sp, por lo que los niveles de nitratos deberían de lograr suelos altamente fértiles, pero la disminución de N en temporada de lluvia origina procesos de lavados a causa de las precipitaciones, en razón de que el ion nitrato no se adhiere a las partículas de arcillas por lo que el agua lava o lixivía del suelo (Costa y Ocete, 2009). En contraste ante la presencia de la materia orgánica el cual posee carga negativa, origina combinaciones complejas que retienen iones hidroxilados, liberando iones fosfatos, incrementando la disponibilidad de nitratos en el suelo (Rojas, 2015).

Por otro lado, los suelos de la comunidad de Silluniamaya presentaron los mayores recuentos bacterianos de *Azotobacter* sp, Garrido y Licona (2017) reportan que se debería



probablemente a que las muestras evaluadas procedían de un suelo en estado de reposo, que logra la regeneración del suelo.

En los campos de Unocolla, Chañohagua y Silluniamaya no hubo diferencia entre meses de diciembre, enero y febrero según las pruebas que presentaron los valores de pruebas de Shapiro – Wilk los cuales indican que cumplen con los supuestos de normalidad según carga bacteriana de *Azotobacter sp*, que indica las concentraciones estadísticamente similares frente a los recuentos de los suelos entre meses. Por lo tanto, se infiere que las zonas de muestreo se encuentran en una misma región y por ende no hubo variación en cuanto a concentraciones mensuales.

4.2 EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS *Azotobacter sp* EN LA LONGITUD DE RAÍCES, ALTURA Y PESO TOTAL DE PLÁNTULA, GROSOR DE TALLO Y DIÁMETRO DE BULBO EN PLÁNTULAS DE CEBOLLA (*Allium cepa*) EN CONDICIONES DE LABORATORIO

4.2.1 Longitud de raíces

Las longitudes de las raíces de las plántulas de cebolla (*Allium cepa*) fueron mayores al inocularlas con concentraciones de *Azotobacter sp* de 6.0×10^5 cél./ml (estándar McFarland 2) con un promedio de 11.78 cm, con valores que oscilaron entre 11.0 cm (R4) y 12.6 cm (R3). Seguidamente se ubicaron las inoculadas con concentraciones de *Azotobacter sp* de 3.0×10^5 cél./ml (estándar McFarland 1) con un promedio de 8.76 cm, con valores que variaron de 7.7 cm (R2) y 9.5 cm (R4). Las menores longitudes de raíces se registraron en aquellas inoculadas con concentraciones de *Azotobacter sp* de 1.5×10^5 cél./ml (estándar McFarland 0.5) con un promedio de 7.24

cm, con valores que modificaron entre 6.3 cm (R2) y 8.1 cm (R3). Todos ellos fueron superiores a lo determinado en el tratamiento control alcanzando los 6.94 cm con una variación entre 6.3 cm (R5) y 7.9 cm (R2). Según el coeficiente de variación, los datos presentaron una baja dispersión con respecto a su promedio con valores entre 5.4% y 10.6%.

Con relación al índice de evaluación de inoculación (IEI) de las longitudes de las raíces, el tratamiento de *Azotobacter* sp a una concentración de 1.5×10^5 cél./ml tuvo un 4.322% de IEI sobre el tratamiento control; por otro lado, el tratamiento de *Azotobacter* sp en la concentración de 3.0×10^5 cél./ml tuvo un 26.22% de IEI con respecto al tratamiento control; mientras que el tratamiento de *Azotobacter* sp a la concentración de 6.0×10^5 cél./ml tuvo un 69.74% de IEI en comparación del tratamiento control.

Tabla 2. Longitud de raíces (cm) de cebolla (*Allium cepa*) post inoculación con bacterias *Azotobacter* sp en tres concentraciones.

Concentración de <i>Azotobacter</i> sp	Longitud de raíces (cm)					\bar{X}	C. V. (%)
	R1	R2	R3	R4	R5		
1.5×10^5 cél./ml	7.2	6.3	8.1	7.9	6.7	7.24	10.6
3.0×10^5 cél./ml	9.3	7.7	8.5	9.5	8.8	8.76	8.1
6.0×10^5 cél./ml	12.2	11.4	12.6	11.0	11.7	11.78	5.4
Control	6.5	7.9	7.1	6.9	6.3	6.94	9.0

Longitudes obtenidas de raíces de cebolla pos inoculación con tres concentraciones de *Azotobacter* sp, presentaron valores de pruebas de Shapiro – Wilk y Levene de 0.415 y 0.912 respectivamente (Figura 26 - Anexos) y el gráfico Q-Q plot (Figura 27 - Anexos), por tanto cumplen con los supuestos de normalidad de datos, y el

análisis de varianza resultó con un valor F calculado de 50.9 y un valor p de <0.001 , lo que se interpreta que las longitudes de raíces presentaron diferencia estadística entre las concentraciones y el tratamiento control. Donde la concentración 1.5×10^5 cél./ml (C_1), presentó diferencia estadística con las concentraciones 3.0×10^5 cél./ml (C_2) y 6.0×10^5 cél./ml (C_3), más no resultó diferente estadísticamente con el tratamiento Control. Por otro lado, la C_2 presentó diferencia estadística frente a la C_3 y el control y la C_3 fue diferente al tratamiento control, tal como se muestra en la Figura 4 y Figura 26 - Anexos respectivamente.

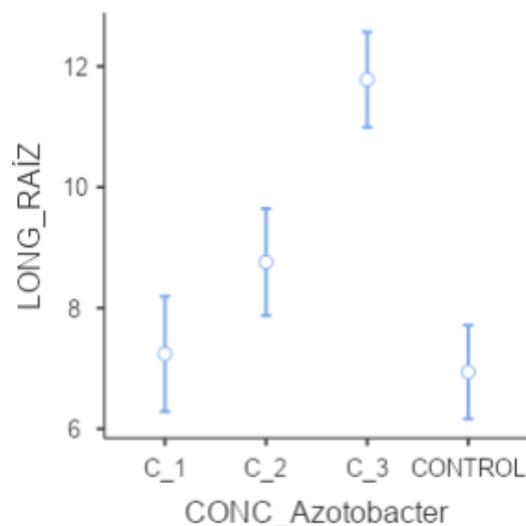


Figura 4. Comparando la longitud de raíz (LONG_RAÍZ) de cebolla pos aplicación de tres concentraciones de *Azotobacter* sp (C_1 = 1.5×10^5 cél./ml; C_2 = 3.0×10^5 cél./ml; C_3 = 6.0×10^5 cél./ml).

En la investigación se estableció que la C_3 (6.0×10^5 cél./ml de *Azotobacter* sp) estimuló la mayor longitud de raíces de cebolla, estos resultados fueron similares a los obtenidos por Escobar *et al.* (2011) quienes en Lambayeque (Perú), al inocular *Azotobacter* spp. En *Lycopersicon esculentum* Mill. “tomate”, obtuvieron un incremento en el volumen radicular frente al testigo, atribuyéndose a que la bacteria



biosintetizó de 7.10 a 57.99 mg/l de ácido indolacético, quien es una auxina (hormona vegetal) el cual tiene efectos de estimular en los ápices y los tejidos meristemáticos a la división celular, por otro lado, fijaron 0.13 a 1.64 mg/l de nitrógeno y 1.61% de eficiencia en la solubilización de roca fosfórica de Bayóvar, estos últimos (nitrógeno y fósforo) importantes nutrientes para la síntesis de nitrógeno y de ATP respectivamente.

Por otro lado, Ogata y Zúñiga (2008) en Huánuco (Perú) determinaron la presencia de *Azotobacter* spp, *Rhizobium* spp, *Bradyrhizobium* spp, *Pseudomonas* spp y actinomicetos en la rizósfera de tara (*Caesalpinia spinosa*), dichas bacterias sostendrían parcialmente el crecimiento de la planta. En la rizósfera de las plantas se encuentran diferentes géneros bacterianos entre ellos a *Azotobacter* sp (Selvakumar *et al.*, 2012), este género posee características como fijar nitrógeno (Yasmin *et al.*, 2010), así como producir índoles (Dawwam *et al.*, 2013), solubilizar fósforo (Sashidhar y Podile, 2009) y sideróforos (Marquez *et al.*, 2015), todas estas propiedades de *Azotobacter* sp serían las causas de las mayores longitudes de raíces inoculadas en la cebolla. Por lo tanto, las bacterias aisladas e inoculadas en las cebollas presentaron actividad promotora del crecimiento vegetal.

En la investigación no se determinaron las especies de las bacterias *Azotobacter* sp, al respecto Pérez y Sánchez (2017), afirman que la especie bacteriana *Azotobacter chroococcum* originó un incremento del 17% en peso radicular (17%) de plántulas de *Ipomoea batatas* respecto al control sin inoculación. Ante una buena estructura radicular Alarcón *et al.* (2008), lograron incrementos en el rendimiento de tubérculos de batata. Por otro lado, *Azotobacter vinelandii* fue reportada como promotora del crecimiento de las plantas, como son el girasol (Shaukat *et al.*, 2006), tomate (Sánchez



et al., 2012), trigo (*Aly et al.*, 2012) e *Ipomoea batatas*. Asimismo, Pérez y Sánchez (2017) lograron un incremento del 49% en el peso radicular con *A. vinelandii*, respecto al control sin inoculación, estos resultados fueron inferiores a los obtenidos en la presente investigación ya que se determinó un incremento máximo del 69.74% con la concentración C_3. En tal sentido, bajo lo referido anteriormente y al analizar los resultados existiría una diferencia fisiológica entre especies de bacterias *Azotobacter* sp en la biosíntesis de fitohormonas, capacidad solubilizadora de fosfatos, entre otras bondades por lo que existe la necesidad de identificar molecularmente a las especies.

La más alta concentración bacteriana aplicada a las plántulas de cebolla indujo las mayores dimensiones de longitud de raíces, lo cual se debería a la actividad metabólica que realizan las raíces y originan una influencia directa sobre la variedad de microorganismos que lograrían establecerse en su superficie (Lozada y Rivas, 2010). Calvo *et al.* (2008) reportan en la región Puno la presencia de poblaciones microbianas en la rizósfera de papa y que estos microorganismos poseen la capacidad de adaptarse a los cambios de temperatura muy variables, ya que poseen genes de shock térmico como las proteínas chaperonas y proteasas y favorecen el crecimiento vegetal al solubilizar fosfato, sintetizar fitohormonas como el ácido indol acético e impidiendo la infección por hongos fitopatógenos a nivel de las raíces. De igual modo, Chacón (2004) en Cuba, manifiestan que al inocular las bacterias *Azotobacter* y *Azospirillum* en el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), logran incrementar las variables biométricas de las plántulas en comparación a los testigos y fertilización mineral. Basado en los resultados obtenidos se determinó que las bacterias que las bacterias *Azotobacter* sp poseen bondades beneficiosas para el mejor crecimiento de plantas, incrementando la longitud de sus raíces.



4.2.2 Altura de planta

La altura de las planta de cebolla (*Allium cepa*) fueron mayores al inocularlas con concentraciones de *Azotobacter* sp de 6.0×10^5 cél./ml (estándar McFarland 2) con un promedio de 40.2 cm, con valores que oscilaron entre 39.2 cm (R5) y 41.1 cm (R3). Seguidamente las plántulas inoculadas con concentraciones de *Azotobacter* sp de 3.0×10^5 cél./ml (estándar McFarland 1) presentaron un promedio de 32.5 cm, con valores que variaron de 30.9 cm (R3) y 34.6 cm (R1). En aquellas inoculadas con concentraciones de *Azotobacter* sp de 1.5×10^5 cél./ml (estándar McFarland 0.5) mostraron un promedio de 27.5 cm, con valores que fluctuaron de 26.9 cm (R3) y 28.4 cm (R2). Todos superaron al tratamiento control alcanzando los 26.3 cm de promedio y una variación de 25.3 cm (R1) y 27.0 cm (R3). Según el coeficiente de variación, los datos presentaron una baja dispersión con respecto a su promedio con valores entre 2.3% y 5.1%.

Comprendiendo al índice de evaluación de inoculación (IEI) de la altura de las plantas, el tratamiento de *Azotobacter* sp a una concentración de 1.5×10^5 cél./ml tuvo un 4.56% de IEI sobre el tratamiento control; por otro lado, el tratamiento de *Azotobacter* sp en la concentración de 3.0×10^5 cél./ml tuvo un 22.05% de IEI con respecto al tratamiento control; mientras que el tratamiento de *Azotobacter* sp a la concentración de 6.0×10^5 cél./ml tuvo un 52.85% de IEI en comparación del tratamiento control.

Tabla 3. Alturas de planta (cm) de cebolla (*Allium cepa*) post inoculación con bacterias *Azotobacter sp* en tres concentraciones.

Concentración de <i>Azotobacter sp</i>	Altura de planta (cm)					Prom	C. V. (%)
	R1	R2	R3	R4	R5		
1.5 x 10 ⁵ cél./ml	27.0	28.4	26.9	27.2	27.9	27.5	2.3
3.0 x 10 ⁵ cél./ml	34.6	33.8	30.9	31.1	32.1	32.5	5.1
6.0 x 10 ⁵ cél./ml	40.9	40.2	41.1	39.5	39.2	40.2	2.1
Control	25.3	26.8	27.0	25.9	26.5	26.3	2.6

La altura del resultado de plántulas de cebolla pos inoculación con tres concentraciones de *Azotobacter sp*, exhibieron valores de pruebas de Shapiro – Wilk y Levene de 0.926 y 0.018 respectivamente (Figura 28 - Anexos) y el gráfico Q-Q plot (Figura 29 - Anexos), por tanto cumplen con los supuestos de normalidad de datos, y el análisis de varianza resultó con un valor F calculado de 280 y un valor p de <0.001, por tanto se afirma que los tratamientos presentaron diferencia estadística entre las concentraciones y el tratamiento control. Donde la C_1 presentó diferencia estadística con las concentraciones C_2 ($p < 0.001$) y C_3 ($p < 0.001$), más no resultó diferente estadísticamente con el tratamiento Control ($p = 0.309$). Por otro lado, la C_2 presentó diferencia estadística frente a la C_3 ($p < 0.001$) y el Control ($p < 0.001$) y la C_3 fue diferente al tratamiento Control ($p < 0.001$), tal como se muestra en la Figura 5 y Figura 28 - Anexos respectivamente.

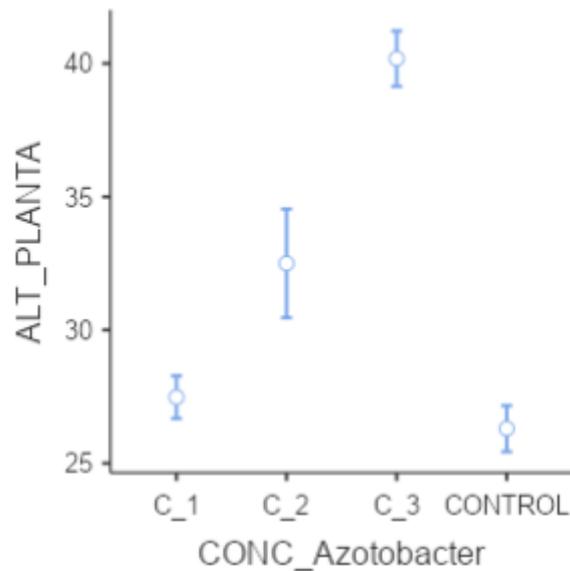


Figura 5. Diferencia de alturas de las plantas (ALT_PLANTA) de cebolla pos aplicación de tres concentraciones de *Azotobacter* sp (C_1 = 1.5×10^5 cél./ml; C_2 = 3.0×10^5 cél./ml; C_3 = 6.0×10^5 cél./ml).

De las tres concentraciones bacterianas inoculadas a la cebolla, la que obtuvo los mayores promedios con respecto a la altura de planta fue la C_3. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Abril *et al.* (2017) quienes en Colombia al inocular bacterias *Bacillus* y *Azotobacter* en *Megathyrus maximus* promovieron el crecimiento vegetal inclusive en condiciones de sequía y riego controlado, logrando incrementar la longitud y la altura de planta luego de 62 días de tratamiento. La capacidad que posee *Azotobacter* sp en incrementar la altura de las plántulas de cebolla se debería a las sustancias que liberan, tal como lo determinaron Esqueche y Quispe (2017) quienes en Lambayeque (Perú) obtuvieron que *Azotobacter* aislados de la rizósfera de *Asparagus officinalis* L. “espárrago”, lograron producir 3.406 a 34.527 ppm de amonio y 0.275 a 5.391 ppm de fósforo soluble, con dichos nutrientes lograron incrementar la altura del espárrago, en cifras de 3.519 a 38.094% respectivamente, en contraste en la investigación se encontró incrementos de 52.85% al inocular concentraciones bacterianas C_3 en cebollas. De donde se infiere que la bacteria *Azotobacter* sp. biosintetiza metabolitos importantes para



incrementar la altura de las plantas, tales como amonio y fósforo soluble, como fuente de nitrógeno y fósforo para la síntesis de proteínas y energía, respectivamente.

Efectos positivos de las bacterias fertilizantes presentes en compost y biofertilizantes en soporte orgánico mineral, evidencian efectos en la longitud de las plantas en comparación con los tratamientos control (Castellano *et al.*, 2015). Otro rasgo de efecto del incremento de altura de las plantas lo reporta Carrillo *et al.* (2015) en Santander (Colombia) quienes determinaron que *Trichoderma* sp, *Azospirillum* RZH132 y *Azotobacter* RZH120 lograron el acrecentamiento de las plántulas de cilantro (*Coriandrum sativum* L.). También Goitia (2014) en Puno (Perú) al inocular semillas de quinua logró incrementar los valores de germinación y crecimiento vegetal. El análisis realizado permite concluir que las bacterias fertilizantes, se nutren de sustancias que se excretan por las raíces de las plantas, a cambio de ello, las bacterias liberan sustancias bioactivas capaces de estimular el crecimiento e incremento de la altura de las plantas experimentadas.

Similares resultados registraron Aycaya (2012) en Locumba (Tacna – Perú) al inocular *Azotobacter chroococcum* en concentración de 10^7 y 10^8 UFC/ml en cebolla rosada (*Allium cepa* L.), logrando mejorar resultados de altura de las plántulas. Constantino *et al.* (2011) en Cuernavaca (México), al aplicar *Azotobacter chroococcum* y *Glomus intraradices*, en plantas de papaya en vivero, en 30 días de emergencia, lograron el mayor crecimiento y biomasa en el cultivo, en comparación con la inoculación simple (solo en plántulas). Estos efectos en el crecimiento de plantas se deberían probablemente a que las bacterias proporcionan a las raíces nitrógeno, fitohormonas, fósforo, vitaminas



y sustancias antibacterianas capaces de marginal de bacterias fitopatógenas (Toro *et al.*, 1977).

Sin embargo, Escobar *et al.* (2011) en Lambayeque (Perú) al inocular *Azotobacter* spp en *Lycopersicon esculentum* Mill. “tomate” produjo 7.10 a 57.99 mg/l de ácido indolacético, 0.13 a 1.64 mg/l de nitrógeno fijado y 1.61% de eficiencia solubilizando roca fosfórica con ello logró el incremento de la altura frente al testigo. Al comparar con otros estudios, se encontró similitud con los resultados obtenidos por Chacón (2004) quien en Cuba inoculó el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) con *Azotobacter* y *Azospirillum* logrando incrementar las variables biométricas de las plántulas comparadas con los testigos y la fertilización mineral. En tal sentido, las bacterias aisladas en campos de cultivo de la región Puno poseen una carga microbiana de *Azotobacter* sp con capacidad de estimular la altura y el crecimiento de las plántulas de cebolla.

4.2.3 Grosor de tallo

El grosor de los tallos de las plántulas de cebolla (*Allium cepa*) fueron mayores al inocularlas con la concentración C_3 de *Azotobacter* sp con un promedio de 0.9 cm, con valores que variaron entre 0.8 cm (R2 y R5) y 1.0 cm (R3). A continuación, se ubicaron las inoculadas con la concentración C_2 con un promedio de 0.7 cm, con valores que variaron de 0.6 cm (R2 y R4) y 0.8 cm (R1). El menor grosor de tallo se registró en aquellas inoculadas con la concentración C_1 de *Azotobacter* sp y el tratamiento Control con un promedio de 0.4 cm, con valores que modificaron entre 0.3 cm (R3 y R4) y 0.5 cm (R2 y R5) en la C_1 y las R4 y R1 – R2 en el tratamiento Control respectivamente. Según el coeficiente de variación, los datos presentaron una leve dispersión con respecto a su promedio con valores entre 9.5% y 25.0%.

Con afinidad al índice de evaluación de inoculación (IEI) de los grosos de tallo de las plantas, el tratamiento de *Azotobacter* sp a una concentración de 1.5×10^5 cél./ml tuvo un 33.0% de IEI sobre el tratamiento control; por otro lado, el tratamiento de *Azotobacter* sp en la concentración de 3.0×10^5 cél./ml tuvo un 75.00% de IEI con respecto al tratamiento control; mientras que el tratamiento de *Azotobacter* sp a la concentración de 6.0×10^5 cél./ml tuvo un 125.00% de IEI en comparación del tratamiento control.

Tabla 4. Tres concentraciones del grosor de tallo (cm) de cebolla (*Allium cepa*) post inoculación con bacterias *Azotobacter* sp.

Concentración de <i>Azotobacter</i> sp	Grosor de tallo (cm)					Prom	C. V. (%)
	R1	R2	R3	R4	R5		
1.5×10^5 cél./ml	0.4	0.5	0.3	0.3	0.5	0.4	25.0
3.0×10^5 cél./ml	0.8	0.6	0.7	0.6	0.7	0.7	12.3
6.0×10^5 cél./ml	0.9	0.8	1.0	0.9	0.8	0.9	9.5
Control	0.5	0.5	0.4	0.3	0.4	0.3	19.9

La pos inoculación con tres concentraciones de *Azotobacter* sp, sobre los tallos de cebolla presentaron valores de pruebas de Shapiro – Wilk y Levene de 0.071 y 0.917 respectivamente (Figura 30 - Anexos) y el gráfico Q-Q plot (Figura 31 - Anexos), por tanto, cumplen con los supuestos de normalidad de datos, y el análisis de varianza resultó con un valor F calculado de 30.0 y un valor p de <0.001 , lo que indica que los valores de grosor de tallo presentaron diferencia estadística entre las concentraciones y el tratamiento control. Donde la concentración C_1 presentó diferencia estadística con las concentraciones C_2 ($p < 0.001$) y C_3 ($p < 0.001$), más no resultó diferente

estadísticamente con el tratamiento Control ($p = 0.984$). Por otro lado, la concentración C_2 presentó diferencia estadística frente a la concentración C_3 ($p = 0.012$) y el Control ($p = 0.001$) y la concentración C_3 fue diferente al tratamiento Control ($p < 0.001$), tal como se muestra en la Figura 6 y Figura 30 - Anexos respectivamente.

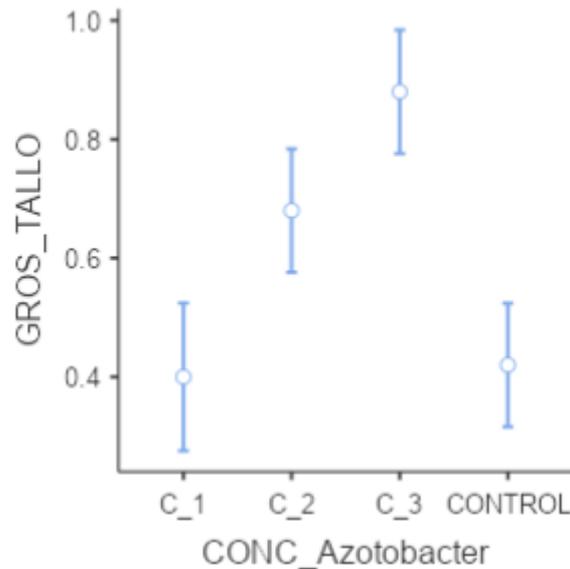


Figura 6. Grosor de los tallo (GROS_TALLO) de cebolla pos aplicación de tres concentraciones de *Azotobacter* sp (C_1 = 1.5×10^5 cél./ml; C_2 = 3.0×10^5 cél./ml; C_3 = 6.0×10^5 cél./ml).

Al igual que anteriores resultados, la concentración más alta experimentada C_3 de *Azotobacter* sp originó estadísticamente los mayores grosores en los tallos, estos resultados concuerdan con lo obtenido por Aycaya (2012) en Locumba (Tacna – Perú) al inocular *Azotobacter chroococcum* en concentraciones de 10^7 y 10^8 UFC/ml en el cultivo de cebolla rosada (*Allium cepa* L.), donde logró elevados resultados en el diámetro ecuatorial de las plántulas, por otro lado, Escobar *et al.* (2011) en Lambayeque (Perú), inocularon *Azotobacter* spp. en *Lycopersicon esculentum* Mill. “tomate”, donde la producción bacteriana de ácido indolacético, nitrógeno fijado y eficiencia solubilizando roca fosfórica lograron el incremento de la parte aérea frente al testigo. Los resultados



tienen correspondencia con lo obtenido por Moreno y Galvis (2013) quienes de 32 cepas nativas de bacterias diazotróficas, la especie *Stenotrophomonas maltophilia* es la que originó las mayores eficiencias en la emergencia, el diámetro de tallo, la longitud de hojas, tallos y el crecimiento de plantas de maíz. De todo lo analizado, las bacterias aisladas de la rizósfera de las plantas poseerían propiedades biofertilizantes nutriendo a las plantas y protegiendo de los microorganismos patógenos, la cual se refleja en la el crecimiento de diámetro (grosor) de la cebolla.

Sobre el incremento de diámetro (grosor) de los tallos de las cebollas, además poseer efectos en las raíces, la inoculación con bacterias diazotróficas puede atribuirse directamente a la absorción de minerales por parte de la planta (Montenegro *et al.*, 2017), donde la absorción de nutrientes incrementada de NO_3^- , NH_4^+ , HPO_4^{2-} , K^+ , Rb^+ , y Fe^{+2} es inducida por bacterias diazótroficas, siendo este el factor causante del aumento de la materia seca foliar y el depósito de minerales en tallos y hojas durante su crecimiento (García *et al.*, 2010). Por otro lado, Vessey (2003) manifiesta que los microorganismos pueden tener una respuesta sinérgica con el hospedero (plantas de cebolla) produciendo principalmente reguladores de crecimiento o fitohormonas que los elevados incrementos en la disponibilidad de nitrógeno y fósforo.

Todos los autores revisados en los antecedentes y al marco teórico manifiestan como la causa principal por el cual las bacterias *Azotobacter* sp estimulan el crecimiento vegetal es la producción de auxinas ácido indol acético (AIA) y que a las 24 horas de evaluación las mencionadas bacterias producen hasta 137.49 ug/ml (González, 2015). De igual forma, Rodríguez (2015) manifiesta que aisló bacterias de los géneros *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Raoultella* y *Ochrobactrum*, y todo ellos produjeron AIA, las cuales



provocan la elongación celular y se sintetizan en los tejidos meristemáticas del ápice de los tallos, de esta manera se logra acelerar el crecimiento vegetal, causando el crecimiento de las raíces adventicias. A pesar de que en el mercado externo a la región Puno se cuenta con numerosos preparados comerciales aplicados en fruticultura, enraizamiento de esquejes de los tallos, estimulan la floración y el cuajado de frutos, por más raro que parezca en tiendas agroquímicas de las ciudades de Puno y Juliaca no cuentan con este tipo de preparados comerciales bacterianos y son generalmente son productos químicos, los cuales no son amigables con el medio ambiente.

Por su parte, León *et al.* (2012) corrobora sus resultados en plantas de tabaco con lo obtenido en las cebollas, en razón de que luego de la inoculación de las plantas tuvieron un grosor o diámetro del tallo y valores de masa fresca y seca adecuados. En otro estudio con nueces de cocotero, la inoculación con *A. chroococcum*, obtuvieron diferencias significativas en el crecimiento y desarrollo de sus plántulas en comparación con el tratamiento testigo (Alvarado *et al.*, 2004). Ampliamente se dedujo que las bacterias que habitan en la rizósfera de las plantas en los campos de cultivo poseen efectos beneficiosos para el incremento del diámetro (grosor) de las plantas de cebolla.

4.2.4 Diámetro de bulbo

La medida de los diámetros de bulbos de las plántulas de cebolla (*Allium cepa*) fueron mayores al inocularlas con concentraciones C_3 con un promedio de 2.8 cm, con valores que oscilaron entre 2.5 cm (R5) y 3.1 cm (R1). Seguidamente se ubicaron las inoculadas con concentraciones C_2 con un promedio de 2.2 cm, con valores que variaron de 2.0 cm (R3) y 2.4 cm (R4). Los menores diámetros de bulbo se registraron en aquellas inoculadas con concentraciones C_1 con un promedio de 1.7 cm, con valores que

modificaron entre 1.6 cm (R3) y 1.9 cm (R2). Todos ellos fueron superiores a lo determinado en el tratamiento Control alcanzando los 1.6 cm con una variación entre 1.5 cm (R2 y R4) y 1.7 cm (R3). Según el coeficiente de variación, los datos presentaron una baja dispersión con respecto a su promedio con valores entre 5.3% y 8.5%.

Con respecto al índice de evaluación de inoculación (IEI) de los diámetros del bulbo de las plantas, el tratamiento de *Azotobacter* sp a una concentración de 1.5×10^5 cél./ml tuvo un 6.25% de IEI sobre el tratamiento control; por otro lado, el tratamiento de *Azotobacter* sp en la concentración de 3.0×10^5 cél./ml tuvo un 35.50% de IEI con respecto al tratamiento control; mientras que el tratamiento de *Azotobacter* sp a la concentración de 6.0×10^5 cél./ml tuvo un 75.00% de IEI en comparación del tratamiento control.

Tabla 5. Diámetro de bulbo (cm) de cebolla (*Allium cepa*) post inoculación con bacterias *Azotobacter* sp en tres concentraciones.

Concentración de <i>Azotobacter</i> sp	Diámetro de bulbo (cm)					Prom	C. V. (%)
	R1	R2	R3	R4	R5		
1.5×10^5 cél./ml	1.6	1.9	1.6	1.7	1.8	1.7	7.6
3.0×10^5 cél./ml	2.3	2.1	2.0	2.4	2.2	2.2	7.2
6.0×10^5 cél./ml	3.1	2.9	3.0	2.7	2.5	2.8	8.5
Control	1.6	1.5	1.7	1.5	1.6	1.6	5.3

La pos inoculación con tres concentraciones de *Azotobacter* sp, en el resultado de los diámetros de bulbo de cebolla, presentaron valores de pruebas de Shapiro – Wilk y Levene de 0.955 y 0.110 respectivamente (Figura 32 - Anexos) y el gráfico Q-Q plot (Figura 33 - Anexos), por tanto, cumplen con los supuestos de normalidad de datos, y el análisis de varianza resultó con un valor F calculado de 46.5 y un valor p de <0.001 , lo

que se interpreta que los diámetros de bulbo raíces presentaron diferencia estadística entre las concentraciones y el tratamiento Control. Donde la concentración C_1 presentó diferencia estadística con las concentraciones C_2 ($p = 0.001$) y C_3 ($p < 0.001$), más no resultó diferente estadísticamente con el tratamiento Control ($p = 0.0544$). Por otro lado, la C_2 presentó diferencia estadística frente a la C_3 ($p < 0.001$) y el Control ($p < 0.001$) y la C_3 fue diferente estadísticamente al tratamiento Control ($p < 0.001$), tal como se muestra en la Figura 7 y Figura 32 - Anexos respectivamente.

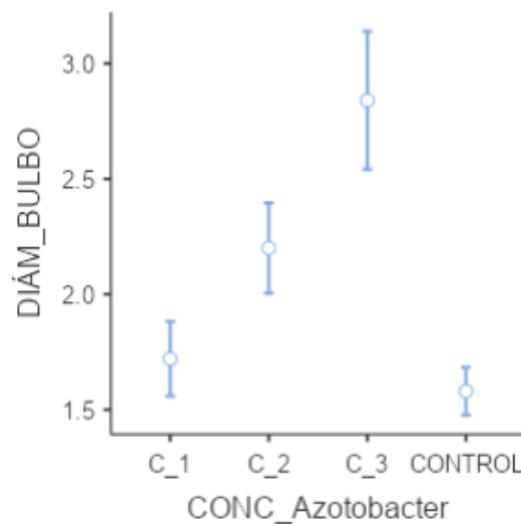


Figura 7. Comparación de los diámetro de bulbo (DIAM_BULBO) de cebolla pos aplicación de tres concentraciones de *Azotobacter* sp (C_1 = 1.5×10^5 cél./ml; C_2 = 3.0×10^5 cél./ml; C_3 = 6.0×10^5 cél./ml).

En la anterior figura, se observa que el tratamiento C_3 que posee la mayor concentración de *Azotobacter* sp dio origen a la formación de los mayores promedios de diámetro de bulbos de cebolla, estos resultados fueron similares a los obtenidos por Aycaya (2012) quien en Locumba (Tacna – Perú), inoculó entre 10^7 y 10^8 UFC/ml de la bacteria *Azotobacter chroococcum* en el cultivo de cebolla rosada (*Allium cepa* L.), posteriormente se logró el incremento del diámetro ecuatorial de las plántulas con respecto al tratamiento control. Al comparar con otros estudios, Quille (2015) determinó



que a aplicar diferentes factores como *Azotobacter* sp y nitrógeno, el análisis de varianza de los diámetros del bulbo de la cebolla, resultaron con diferencias significativas entre bloques de bacterias *Azotobacter* y nitrógeno, se encontraron diferencias altamente significativas.

En contraposición a los resultados de la presente investigación, Mamani (2017) encontró que el diámetro ecuatorial de los bulbos de cebolla fue mayor al inocular con dosis más altas de la bacteria en referencia a los demás tratamientos, no resultando estadísticamente diferentes, por lo tanto, se infiere indicando que el formulado bacteriológico no poseería ejercer una influencia marcada sobre el diámetro de bulbos. Asimismo, Méndez y Viteri (2007) experimentaron el efecto de los biofertilizantes bocashi, caldo rizosfera y caldo super cuatro, logrando que los diámetros de los bulbos de cebolla se diferencien en 1% con respecto al testigo, por lo que no se logró diferencias estadísticas significativas. Como se observa el formulado biológico no superó estadística al tratamiento biológico, pero se debería a que los microorganismos administrados no producirían fitohormonas ni favorecen el incremento de los rendimientos del cultivo, sino más bien cumplen una labor más importante como contribuir activamente en la recuperación de las propiedades biológicas, físicas y químicas de los suelos (Viteri, 2002) y a su sostenibilidad a través del tiempo. Por lo analizado se puede inferir de que no todas las bacterias aisladas de la rizósfera estimulan o promueven el crecimiento vegetal, sino más bien mejoran las características edafológicas de un campo de cultivo.

A pesar de ello, en la investigación los mayores promedios de diámetros de bulbo se deberían a que ejercen un efecto estimulante en la activación de los diferentes procesos fisiológicos como el aumento de la fotosíntesis y la producción de hormonas actúa sobre



la elongación de las células de la planta (Montano *et al.*, 2007). Por otra parte, investigaciones ejecutadas por Yamaguchi *et al.* (2008) determinaron que el proceso de formación y crecimiento de bulbos de cebolla están controladas por los niveles de las fitohormonas giberelinas y por el fotoperíodo, quien coincide con los afirmados por Izquierdo y Gómez (2007) al reportar pesos del bulbo entre 25,9 - 30,9 g con el clon utilizado en este experimento. Simultáneamente, esta investigación demuestra que al aplicar 9 L ha⁻¹ de humus de lombriz líquido los bulbos poseen mayor diámetro por el efecto positivo que ejerce el producto sobre el cultivo. Hernández (2010) expresa que el humus líquido beneficia el grosor y peso de los rábanos (*Raphanus sativum* L.) y los componentes del rendimiento en dicho cultivo. Según Sidoti y Caucota (2010), resultados similares pueden conseguirse con la aplicación de fertilizantes nitrogenados.

Los microorganismos del suelo se constituyen en un componente importante y constituyen la parte viva y vienen a ser los responsables de la dinámica de transformación y desarrollo. Al igual que un autor anteriormente citado, los microorganismos eficientes (EM) son utilizados en calidad de inoculantes del suelo para lograr un equilibrio biológico, mejorando así la asimilación de nutrientes disponibles, por otro lado, suprime microorganismos patógenos perjudiciales mediante exclusión competitiva o dominación absoluta, llegando a favorecer el crecimiento, protección y rendimiento de las plantas de cultivo, y que al aplicar como aspersiones foliares, estos mejoran el crecimiento del follaje en un 22% aumentando así el área fotosintética, lo que se traduce en la mayor elaboración de nutrientes para la planta y finalmente el incremento de su productividad, llegando inclusive a proteger a las plantas del ataque de determinados patógenos (Peñañiel y Donoso, 2004). Se infiere que las bacterias *Azotobacter* sp tienen un efecto muy interesante no solo en la estimulación del crecimiento de las plantas, sino también mejorar



los suelos y protegerlos de los microorganismos patógenos, por lo que se convierte en una alternativa ecológica.

4.2.5 Peso total de la planta

Las plántulas de cebolla (*Allium cepa*) con pesos totales fueron mayores al inocularlas con concentraciones C_3 con un promedio de 19.0 cm, con valores que oscilaron entre 17.3 cm (R5) y 20.9 cm (R3). A continuación, se ubicaron las inoculadas con concentraciones C_2 con un promedio de 13.9 cm, con valores que variaron de 12.8 cm (R3) y 15.8 cm (R1). Los menores pesos totales estuvieron en aquellas inoculadas con la concentración C_1 con un promedio de 10.5 cm, con valores que modificaron entre 9.9 cm (R3) y 11.7 cm (R2). Todos superaron a lo determinado en el tratamiento control quien alcanzó un promedio de 9.9 cm con una variación entre 9.3 cm (R5) y 10.5 cm (R3). Según el coeficiente de variación, los datos presentaron una baja dispersión con respecto a su promedio con valores entre 4.7% y 8.6%.

Con relación al índice de evaluación de inoculación (IEI) de los grosores de tallo de las plantas, el tratamiento de *Azotobacter* sp a una concentración de 1.5×10^5 cél./ml tuvo un 6.06% de IEI sobre el tratamiento control; por otro lado, el tratamiento de *Azotobacter* sp en la concentración de 3.0×10^5 cél./ml tuvo un 40.40% de IEI con respecto al tratamiento control; mientras que el tratamiento de *Azotobacter* sp a la concentración de 6.0×10^5 cél./ml tuvo un 91.91% de IEI en comparación del tratamiento control.

Tabla 6. Cebolla (*Allium cepa*) con su peso total de plantas (g) post inoculación con bacterias *Azotobacter* sp en tres concentraciones.

Concentración de <i>Azotobacter</i> sp	Peso total de plantas (g)					Prom	C. V. (%)
	R1	R2	R3	R4	R5		
1.5 x 10 ⁵ cél./ml	10.0	11.7	9.9	10.2	10.9	10.5	7.2
3.0 x 10 ⁵ cél./ml	15.8	14.3	12.8	13.1	13.5	13.9	8.6
6.0 x 10 ⁵ cél./ml	19.7	18.8	20.9	18.1	17.3	19.0	7.4
Control	9.6	10.1	10.5	9.9	9.3	9.9	4.7

Resultados de los pesos totales de las plántulas pos inoculación con tres concentraciones de *Azotobacter* sp, presentaron valores de pruebas de Shapiro – Wilk y Levene de 0.472 y 0.162 respectivamente (Figura 34 - Anexos) y el gráfico Q-Q plot (Figura 35 - Anexos), en tal sentido cumplen con los supuestos de normalidad de datos, y el análisis de varianza resultó con un valor F calculado de 63.7 y un valor p de <0.001, indicando que los pesos totales presentaron diferencia estadística entre las concentraciones y el tratamiento Control. Donde la concentración C_1 ($p < 0.001$) presentó diferencia estadística con las concentraciones C_2 ($p < 0.001$) y C_3 ($p < 0.001$), más no resultó diferente estadísticamente con el tratamiento Control ($p = 0.740$). Por otro lado, la C_2 presentó diferencia estadística frente a la C_3 ($p < 0.001$) y el Control ($p < 0.001$) y la C_3 fue diferente al tratamiento Control ($p < 0.001$), tal como se muestra en la Figura 8 y Figura 34 - Anexos respectivamente.

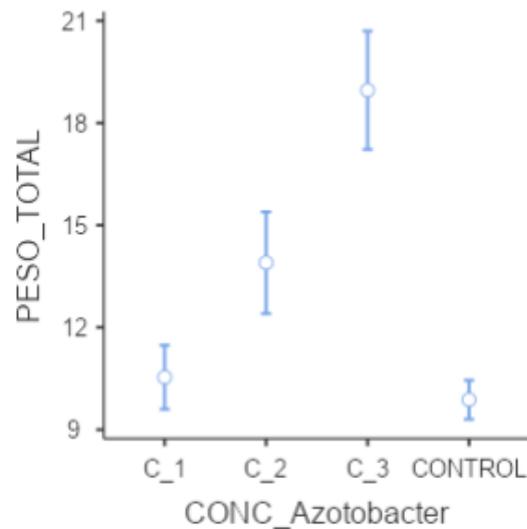


Figura 8. Contrastando el peso total (CONC_Azotobacter) de cebolla pos aplicación de tres concentraciones de *Azotobacter* sp (C_1 = 1.5×10^5 cél./ml; C_2 = 3.0×10^5 cél./ml; C_3 = 6.0×10^5 cél./ml).

Como se ha observado en toda la investigación la concentración C_3 de 6.0×10^5 cél./ml de *Azotobacter* sp, fue la que originó los mayores promedios en las determinaciones biométricas. Resultados similares fueron obtenidos por Castellano *et al.* (2015) quienes en Bogotá (Colombia) en un cultivo de lechuga aplicaron un biofertilizante donde el tratamiento compost + biofertilizante y biofertilizante lograron los mayores efectos en el peso fresco y seco en comparación con los demás tratamientos. Por otro lado, Constantino *et al.* (2011) en Cuernavaca (México), aplicaron *Azotobacter chroococcum* y *Glomus intraradices*, en plantas de papaya y luego de 30 días lograron el mayor crecimiento y biomasa vegetal. Mientras tanto que Chacón (2004) en Cuba, inocularon *Azotobacter* y *Azospirillum* en el cultivo del frijol común y logró incrementar variables biométricas de las plántulas las cuales fueron diferentes a los resultados del tratamiento control.



Azotobacter sp es considerado un bioinoculantes en razón de que es una bacteria PGPRs su aplicación en los cultivos andinos se constituye en una herramienta prometedora en los campos de cultivo (Di-Benedetto *et al.*, 2017), en razón de que brindan los siguientes beneficios como la fijación biológica de nitrógeno, la coadyuvación con la absorción de nutrientes, la estimulación del crecimiento de ramas y raíces, el control o supresión de agentes infecciosos y mejorando la calidad fisicoquímica y biológica de los suelos (Altaf y Ahmad, 2017). *Azotobacter* sp fue aisladas en los suelos de los tres campos de cultivo, esto se debe a que estas bacterias son bacterias de vida libre comunes del suelo y no requieren necesariamente realizar simbiosis como las plantas Fabáceas (Sánchez y Pérez, 2018).

Azotobacter sp habitan cerca de las raíces de las plantas, en este caso la mayor concentración bacteriana (C_3) se nutrirían a partir de los exudados de las raíces y en contraposición las bacterias le proporcionan nitrógeno compuesto a las plantas (Monib *et al.*, 1979), los exudados liberadas por las raíces contienen aminoácidos, azúcares, compuestos fenólicos, ácidos orgánicos, ácidos grasos y vitaminas (Prashar *et al.*, 2014), estos se constituyen en su fuente de energía, originando el vigor y el aumento de la ganancia de nitrógeno. Los resultados son tan alentadores que se inocularon *Azotobacter* sp en cultivos de papa, acelerando la formación de tubérculos y acrecentando el almacenamiento de almidón y por lo tanto el rendimiento en el cultivo (Shikina, 1961), en tal sentido, la rizosfera es un ambiente dinámico, donde las bacterias poseen un crecimiento activo y en equilibrio (Pedraza *et al.*, 2010). Por lo tanto, *Azotobacter* no solo tiene capacidad bioestimulante, sino también gracias a su acción nitrofixadora y excreciones proteicas y de enzimas, lograrían producir modificaciones fisiológicas y metabólicas en las plantas (Mezei *et al.*, 1997).



Las bacterias del género *Azotobacter*, lograron incrementar el peso total de las plantas de cebolla ya que protegen contra los fitopatógenos y producen metabolitos como las fitohormonas y la deaminasa que modula el nivel de hormonas en plantas.



V. CONCLUSIONES

- La carga bacteriana de *Azotobacter* sp presentes en las comunidades de Juliaca (Unocolla), Lampa (Chañohagua) y Puno (Silluniamaya) los meses de diciembre, enero y febrero del 2019 al 2020, Unocolla presentó un promedio de 53×10^6 UFC/g el mes de diciembre, y los meses de enero y febrero 43×10^6 UFC/g, Chañohagua los meses de diciembre y febrero obtuvo un recuento de 45×10^6 UFC/g, y 48×10^6 UFC/g el mes de enero, seguidamente Silluniamaya mostró su mayor recuento en febrero con 63×10^6 UFC/g y el menor recuento con 46×10^6 UFC/g el mes de enero, esto nos indicó que los recuentos de *Azotobacter* sp presentaron diferencia estadística entre las zonas de muestreo pero no entre meses de muestreo.
- La inoculación de bacterias *Azotobacter* sp, presentaron efectos estimulantes en las plántulas de cebolla (*Allium cepa*), con relación al índice de evaluación de inoculación (IEI). la raíz tuvo un 69.74%, en la altura de la planta el IEI fue del 52.85%, en el grosor de tallo el IEI tuvo un valor de 125%, el diámetro del bulbo indicó un IEI de 75% y el peso total de la planta el IEI fue del 91.91%, por tanto, la bacteria *Azotobacter* sp con mejor concentración bacteriana fué 6.0×10^5 cél./ml presentando los mejores efectos en el crecimiento de las plántulas de cebolla.



VI. RECOMENDACIONES

- Realizar más estudios de cuantificación de la bacteria *Azotobacter sp* en suelos de distinta altitud y características climáticas en la región Puno así como su influencia en los cultivos agrícolas que predominan, como son los tubérculos, gramíneas, hortalizas café etc.
- La bacteria *Azotobacter sp* al ser un microorganismo fijador de nitrógeno atmosférico presenta potencial y beneficios como fertilizante natural de los suelos que se podrían aplicar en otras regiones del Perú, tomando en cuenta el clima, temperatura, tiempo, y tipo de cosecha de cada zona realizando aislamientos de suelo, diferenciando las temporadas del mes.
- De los resultados se espera que se constituya en una alternativa orgánica de biofertilización de cultivos vegetales de consumo humano y una biotecnología económica al alcance de los agricultores en la región Puno.
- Se sugiere que mediante estudios moleculares identifiquen a las especies predominantes y sus características particulares de cada género bacteriano de *Azotobacter sp* en la región Puno.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abril, J., Roncallo, B., y Bonilla, R. (2017). Efecto de la inoculación con bacterias del género *Bacillus* sobre el crecimiento de *Megathyrsus maximos* Jacq, en condiciones de estrés hídrico. *Rev. Agron. Noroeste Argent.* 37(1): 25 - 37.
- Acuña N. (2007). Edafología, Manual para estudiantes. Managua, Nicaragua.
- Alarcón, Z., Morales, A., Oliva, J., Vega, B. y Boicot, F. (2008). Efecto de la aplicación de *Azotobacter chroococcum* y *Glomus* sp en el cultivo del boniato (*Ipomea batatas* (L), Lam). *Revista Electrónica Granma Ciencia.* 12 (2):1-9.
- Altaf, M. y Ahmad, I. (2017). *In vitro* and *in vivo* biofilm formation by *Azotobacter* isolates and its relevance to rhizosphere colonization. *Rhizosphere.* 3: 138-142. Doi: 10.1016/j.rhisph.2017.04.009.
- Alvarado, K., Blanco, A., Rodríguez, L., González, R. y Abreu, N. (2004). Influencia de la concentración y forma de aplicación del *Azotobacter* en la germinación de nueces de cocotero (*Cocos nucifera*). Centro de Desarrollo de la Montaña.
- Aly, M., El Sayed, A. & Jastaniah, D. (2012). Synergistic effect between *Azotobacter vinelandii* and *Streptomyces* sp. isolated from saline soil on seed germination and growth of wheat plant. *Journal of American Science.* 8 (5): 667-676.
- Arguello, A., Madiedo, N., y Moreno, L. (2016). Cuantificación de bacterias diazótroficas aisladas de suelos cacaoteros (*Theobroma cacao* L.), por la técnica de Número Más Probable (NMP). *Rev. Colomb. Biotecnol.* XVIII(2): 40 - 47.
- Aycaya. (2012). Influencia de la biofertilización con *Azotobacter chroococcum* en la producción y calidad de cebolla rosada (*Allium cepa* L.) en el valle de Locumba. Informe de investigación, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, E. A. P. de Biología - Microbiología, Tacna - Perú.
- Balandreau, J. (1986). Ecological factors and adaptative processes in N₂ - fixing bacterial populations of the plant environment. *Plant Soil.* 90: 73.
- Bashan, Y., Olgún, G., Puente, M., Carrillo, A., Alcaraz, L., López, A. y Ochoa, J. (1993). Critical evaluation of plant inoculation with beneficial from the genus *Azospirillum*. p. 115-126. In: R. Ferrera-Cerrato y R. Quintero L. (eds.). Agroecología, sostenibilidad y educación. Centro de Edafología, Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Bernal, A., Hernández, A., Mesa, M., Rodríguez, O., González, P. y Reyes, R. (2015).



- Características de los suelos y sus factores limitantes de la región de Murgas, provincia La Habana. *Rev. Cultivos Tropicales*. 36(2): 30-40. <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193239249005.pdf>.
- Bertaud, S. (1986). The effects of light on bulbing in onions. *Proceedings Agron. Soc. N Z*. 16(1):79-86.
- Bethlenfalvay, J. y Linderman, R. (1992). Preface. In: Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. Bethlenfalvay, G. J., and R. G. Linderman (eds.). ASA. Madison, Wis. p. 8-13.
- Bitton, G. (1983). Bacterial and biochemical tests for assessing chemical toxicity in the aquatic environment: a review. *CRC Critical Rev. Environmental Control*. 13 (1): 51- 67.
- Bland, W. (1993). Cotton and Soybean root systems growth in three soil temperature regimes. *Agron. J*. 85: 906-911.
- Brewster, L. (2008). Onions and other vegetable alliums 2nd edition. *Crop Prod. Sci. Hort.* 15:1-432.
- Bruinsma, J. (2003). World Agriculture: Towards 2015/2030 and FAO perspective. Roma: FAO.
- Burton, G. y Lanza, G. (1986). Variables affecting to electron transport system assays. *Applied and Environmental Microbiology*. 51(5): 931-937.
- Calvo, P., Meneses, L. y Zúñiga, D. (2008). Estudio de las poblaciones microbianas de la rizósfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en zonas altoandinas. *Revista Ecología Aplicada*. 7(1,2): 141 - 148.
- Calvo, P., y Zúñiga, D. (2010). Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Revista Ecología Aplicada*, 9(1): 31 - 39.
- Camacho, S. (2014). Ensayos microbiológicos. Editorial Síntesis. Madrid – España. 466 p.
- Camelo, M., Vera, V. y Bonilla, R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Rev. Corpoica*. 12: 159-166.
- Campos, S. (2007). Conservación de suelos y aguas. Nicaragua, Departamento de Currículum.
- Carrillo, K., Colmenares, A., Ramírez, L., Moreno, L., y Cárdenas, D. (2015). Inoculación de cilandro (*Coriandrum sativum* L.) con rizobacterias en Villa del



- Rosario, Norte de Santander. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín*. 68(1): 7459 - 7470.
- Castellano, D., Rincón, J., y Arguello, H. (2015). Evaluación del efecto de un biofertilizante ligado a un soporte orgánico mineral en un cultivo de lechuga en la Sabana de Bogotá bajo condiciones de invernadero. *Rev. Colomb. de Ciencias Hortícolas*. 9(1): 72 - 85.
- Castillo, Cr. (2019). Efecto de la aplicación de *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter vinelandii* y *Pseudomonas fluorescens* sobre la producción de Flavonoides en *Calendulas officinalis*. Tesis de Microbióloga Industrial. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá - Colombia. 49 p. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/46349/Carta%20de%20autorizaci%C3%B2n%20autores.pdf?sequence=2&isAllowed=n>
- Cerón, L. y Aristizábal A. (2012). Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 285-295.
- Chacón, D. (2004). Influencia de rizobacterias diazotróficas sobre el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Las Villas - Cuba.
- Chanway, P. (1997). Inoculation of tree roots with plant growthpromoting soil bacteria: An emerging technology for reforestation. *For. Sci.* 43: 99-112.
- Chanway, P., Hynes, R. y Nelson, L. (1989). Plant growthpromoting rhizobacteria: Effects on growth and nitrogen fixation of lentil (*Lens esculenta* Moench.) and pea (*Pisum sativum* L.). *Soil Biol. Biochem.* 21: 511-517.
- Chope, A., Cools, K., Hammond, J., Thompson, J. y Terry, A. (2012). Physiological, biochemical and transcriptional analysis of onion bulbs during storage. *Annals Bot.* 109:819-831.
- Constantino, M., Gómez, R., Álvarez, J., Pat, J. y Guadalupe, E. (2011). Efecto de la inoculación de *Azotobacter chroococcum* y *Glomus intraradices* en el crecimiento y nutrición de plántulas de papaya en fase de vivero. *Agronomía Costarricense*, 35(1): 15 - 31.
- Corbella, R. y Fernández, J. (2010). *Materia orgánica del suelo*. Tucumán, Argentina: Universidad Nacional de Tucumán.
- Córdova, Y., Rivera, M., Ferrera, R., Obrador, J. y Córdova, V. (2009). Detección de bacterias benéficas en suelo con banano (*Musa AAA Simmonds*) cultivar "Gran enano" y su potencial para integrar un biofertilizante. *Universidad y Ciencia*



Trópico Húmedo. 253 - 265.

- Costa, J. y Ocete, C. (2009). Nitratos en el suelo. Web: <http://www.ugr.es/~cjl/Nitrogeno%20en%20suelos.pdf>.
- Dawwam, E., Elbeltagy, A., Emara, M., Abbas, H. & Hassan, M. (2013). Beneficial effect of plant growth promoting bacteria isolated from the roots of potato plant. *Annals of Agricultural Sciences*. 58 (2): 195-201.
- De Freitas, R. y Germida, J. (1992). Growth promotion of winter wheat by *Pseudomonas fluorescens* under growth chamber conditions. *Soil Biol. Biochem.* 24: 1127-1135
- De la Garza, J., Morales, B., y Gomzález, B. (2013). Análisis estadístico multivariante, un enfoque teórico y práctico (Primera edición ed.). México: McGraw - Hill / Interamericana Editores.
- Di Benedetto, A. y Tognetti, J. (2016). Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos.
- Díaz, P., Ferrera, R., Almaraz, J. y Alcántar, G. (2001). Inoculación de bacterias promotoras del crecimiento en lechuga. *Terra* 19: 327-335.
- Di Benedetto, A., Corbo, M., Campaniello, D., Cataldi, M., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M. y Flagella, Z. (2017). The role of plant growth promoting bacteria in improving nitrogen use efficiency for sustainable crop production: a focus on wheat. *AIMS Microbiol.* 3: 413-434. Doi: 10.3934/microbiol.2017.3.413.
- Dick, R., Rasmussen, P. y Kerle, E. (1988). Influence of longterm residue management on soil enzyme activities in relation to soil chemical properties of a wheatfallow system. *Biol Fertil Soils*. 6: 159-164.
- Peñafiel, B. y Donoso, M. (2004). Evaluación de diferentes dosis de microorganismos eficientes (EM) en el cultivo de pepino (*Cucumis sativus*) híbrido atar ha-435. Tesis de Ing. en Mecánica y Ciencias de la Producción. Escuela Superior Politécnica del Litoral. <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/html/695/69530103/69530103.html>.
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C., y Mendoza, G. (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill "tomate" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria* 2: 39 - 49.
- Espín, G. (2000). Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de México. Disponible desde 2016.
- Esqueche, A., y Quispe, G. (2017). Caracterización de bacterias del género *Azotobacter* aisladas de rizoplano y rizósfera de *Asparagus officinalis* L. y su potencial como



- promotoras de crecimiento de plantas. Tesis de Licenciado en Biología, Facultad de Ciencias Biológicas - Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Departamento Académico de Microbiología y Parasitología, Lambayeque - Perú.
- FAO (2015). Manual de Prácticas integradas de manejo de suelo.
- Farajzadeh, D., Yakhchal, B., Aliasgharзад, N. y Sokhandan, N. (2009). Isolation and identification of micro - organisms in isolation media for Azotobacteria. Unpublished.
- Ferrera, R. (1995). Efecto de rizosfera. pp. 36-52. In: R. Ferrera-Cerrato y J. Pérez M. (eds.). Agromicrobiología. Elemento útil en la agricultura. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Fialho, A., Zielinski, N., Fett, W., Chakrabarty, A. y Berry, A. (1990). Distribution of alginate gene sequenses in the *Pseudomonas* rRNA homology grupo I - *Azomonas* - *Azotobacter* lineage of superfamilia B procariotes. *Appl. Environ. Microbiolog.* 56: 436-443.
- Fornaris, G. (2012). Conjunto Tecnológico para la Producción de Cebolla. Características de la planta. Colegio de Ciencias Agrícolas, Universidad de Puerto Rico. 10 p. <https://www.uprm.edu/eea/wp-content/uploads/sites/177/2016/04/2.-CEBOLLA-CARACTERISTICAS-DE-LA-PLANTA-G.-Fornaris-v2012.pdf>.
- García, de Salomone I., Di Salvo, L., Escobar, J., Boa, P., Urquiaga, S. y Teixeira, K. (2010). Field response of rice paddy crop to *Azospirillum* inoculation: physiology of rhizosphere bacterial communities and the genetic diversity of endophytic bacteria in different parts of the plants. *Plant. Soil.* 336(351).
- García, H., Sequeira, J. y Álvarez, C. (2020). Manejo y características de los suelos agrícolas de colonia Providencia, Nueva Guinea, 2017. *Rev. Universitaria del Caribe.* 24(1): 78-97. DOI: <https://doi.org/10.5377/ruc.v24i01.9913>.
- Garza, F. y Valdés, M. (2000). Tamaño de la población microbiana del suelo y desarrollo inicial de *Desmanthus virgatus* (L.) Willd. *Rev. Agrociencia.* 34(4):445-451. <https://www.redalyc.org/pdf/302/30234408.pdf>.
- Goitia, J. (2014). Aislamiento de bacterias diazotróficas en suelos de cultivo, vírgen y humus de lombriz del distritode Puno y su efecto in vitro en la germinación de la quínoa (*Chenopodium quinoa* Wild.). Tesis de Licenciatura en Biología, Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Biológicas, Puno - Perú.
- Gonzáles, M. y López, J. (1986). Production of auxinas, gibberellins and cytokinins by



- Azotobacter vinelandii*. ATCC12837, in chemically defined media and dialyzed soil media. New York, EU. McGraw-Hill: 119-120.
- González, R. (2015). Aislamiento y caracterización de bacterias diazotróficas del género *Azotobacter* y su efecto sobre el crecimiento y desarrollo en maíz, variedad INIAP 182, en la estación experimental la Argelia. Tesis de Ing. Agrónomo, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, Universidad Nacional de Loja. Loja – Ecuador. 102 p.
- Haqqani, A. y Pandey, R. (1994). Response of mung bean to water stress and irrigation at various growth stages and plant densities: I. Plant and crop growth parameters. *Trop. Agrom. Trinida*. 71 (4): 281-288.
- Hernández, A., Agafonov, O., Bouza, H. y Salazar, A. (1982). Características de los suelos con drenaje deficiente en Cuba. Inst. Hidroeconomía de Cuba. *Revista Voluntad Hidráulica*. 59: 41-45.
- Hernández, A., Ascanio, M., Morales, M., Bojórquez, I., García, N. y García, J. (2006). Fundamentos sobre la formación del suelo, cambios globales y su manejo. Editorial Universidad de Nayarit. 255 p.
- Hernández, A., Bojórquez, I., Morell, F., Cabrera, A., Ascanio, O., García, D., Madueño, A. y Nájera, O. (2010). Fundamentos de la estructura de suelos tropicales. Primera Edición. Universidad autónoma de Nayarit, México e Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Cuba. 80 p.
- Hernández, K. (2010). Efecto de las diferentes dosis de humus líquido sobre los rendimientos del rábano (*Raphanus sativum* L.). Trabajo de Diploma. Facultad Agropecuaria Montaña del Escambray. Cuba. 54 p.
- Herrán, F., Torres, A., Rojo, M., Martínez, G. y Olalde, R. (2008). Importancia de los abonos orgánicos. Ra Ximhai.
- Hitchins, V. y Sadoff, H. (1973). Sequential metabolic events during encystment of *Azotobacter vinelandii*. *J. Bacteriol.* 113: 1273 - 1279.
- Hoffland, E., Bakker, P. y Loon, V. (1997). Multiple disease protection by rhizobacteria that induce systemic resistance-reply. *Phytopathol.* 87(2): 138.
- Holt, J. (2000). Bergey's manual to determinative bacteriology Baltimor, Maryland, USA: Williams y Wilkins.
- Horan, N., Jarman, T. y Dawes, E. (1983). Studies of some enzymes of aliginic acid biosynthesis in *Azotobacter vinelandii* grown in continuous culture USA.



- Huang, Q., Skindo, H. y Goh, T. (1995). Adsorption, activities and kinetics of acid phosphatase as influenced by montmorillonite with different interlayer material. *Soil Sci. 159*(4): 27-278.
- Ibáñez, J. (2007). pH del Suelo. Madrid: Fundación para el Conocimiento Madrid.
- IIFT, Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. (2011). Instructivo técnico para el cultivo de la guayaba. CUBA: Biblioteca ACTAF.
- INATEC (2007). Técnicas de Conservación de Suelo.
- INATEC (2016). Prácticas de conservación de suelos y agua.
- INTAGRI. (2018). La conductividad eléctrica del suelo en el desarrollo de los cultivos. <https://www.intagri.com>.
- Izquierdo, H. y Gómez, O. 2007. ‘Vietnamita’, Un clon de ajo (*Allium sativum* L.) de alta calidad tosanitaria y buen potencial de rendimiento. Informe de nuevos clones. *Rev. Cultivos Tropicales. 28* (1): 75.
- Jenkinson, D. (1992). La Materia Orgánica del Suelo: Evolución. En: Wild A. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas. Madrid. Mundi-Prensa.
- Jenkinson, D. 1992. La Materia Orgánica del Suelo: Evolución. En: Wild A. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas. Madrid. Mundi-Prensa.
- Kandeler, E. y Eder, G. (1993). Effect of cattle slurry in grassland on microbial biomass and on activities of various enzymes. *Biol Fertil Soils. 16*: 249-254.
- León, J. (2003). Cultivo de la quinua en Puno – Perú, descripción, manejo y producción. Texto universitario de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú. 62 p.
- León, Y., Hernández J., Rodríguez N. y Martínez R. (2012). Aplicación de *Azotobacter chroococcum* en la producción de plántulas de tabaco negro. *Rev. Cultivos tropicales. 33*(2).
- Lifshitz, R., Kloepper J. y Kozlowski, M. (1987). Growth promotion of canola (repeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotics conditions. *Can. J. Microbiol. 3*: 390-395.
- Lin, L. y Sadoff, H. (1968). Encystment and polymer production of *Azotobacter vinelandii* in the presence of B - hidroxibutirato Londres.
- Lozada, L. y Rivas C. (2010). Evaluación del efecto de la inoculación con *Azotobacter* spp en plantas de ají dulce (*Capsicum frutescens*). Tesis de Técnico Superior Agrícola. Departamento de Ciencias Agrarias, Universidad de los Andes. Trujillo



- Venezuela. 56 p.
http://bdigital.ula.ve/storage/pdftesis/pregrado/tde_arquivos/34/TDE-2010-05-18T07:01:28Z-956/Publico/LozadaLusbely_RivasCarmen.pdf.
- Lugo, D. y Rey, J. (2009). Evaluación de la vulnerabilidad a la degradación agroambiental a través del uso del sistema microleis en los suelos de los llanos centrales de Venezuela. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25(1): 43 - 60.
- Lynch, M. (1990). *The rhizosphere*. John Wiley. New York.
- Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J. (2004). *Brock. Biología de los Microorganismos* (10ma Edición ed.). Madrid - España: Pearson Educación S. A.
- Mamani, E. (2017). Dosis y número de aplicaciones de un formulado biológico (*Azotobacter salinestris*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Rhizophagus intraradices*) en *Allium cepa* cv. 'Century'. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa – Perú. 132 p.
<http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/4441/AGmaced.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Marques, M., Da Silva, F., Vollú, E., De Lacerda, M., Blank, F., Smalla, K. y Seldin, L. (2015). Bacterial endophytes of sweet potato tuberous roots affected by the plant genotype and growth stage. *Applied Soil Ecology.* 96(1), 273-281.
- Martínez, M., Gómez, M., Ortiz, R. y Carreón A. (2009). Efecto del cobre en el crecimiento y arquitectura de la raíz de *Arabidopsis thaliana* L. *Rev. Biológicas.* 11:122-131.
<http://www.biologicas.umich.mx/index.php/biologicas/article/view/63/63>.
- Mayea, S., Carone, M., Novo, R., Boado, I., Silveria, E., Soria, M. et al. (1998). *Aplicaciones de la Microbiología Agropecuaria Cuba: Félix Valer*.
- Méndez, M. y Viteri S. (2007). Alternativas de biofertilización para la producción sostenible de cebolla de bulbo (*Allium cepa*) en Cucaita. *Rev. Agronomía Colombiana.* 25(1): 168-175.
- Mendoza, K., Torres, R., Reyes, O., Catillo, X., Pentzke, E. y Oviedo, C. (2013). Evaluación del estado actual de la fertilidad de los suelos para la recomendación de alternativas del manejo sostenible de los suelos en las fincas de medianos y pequeños productores en el occidente del país.
- Monib, M., Abd-el-Malek, Y., Hosny, I. y Fayez, M. (1979). Effect of *Azotobacter* inoculation on plant growth and soil nitrogen. *Zentralbl. Bakteriologie. Naturwiss.* 134



- (2): 140-148. Doi:10.1016/S0323-6056(79)80040-3.
- Montano, R., Zuaznabar R. y García A. (2007). FitoMas-E: Bionutriente derivado de la industria azucarera ICIDCA. *Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, XLI (3): 14-21.
- Montenegro, S., Gómez S. y Barrera S. (2017). Efecto de la gallinaza sobre *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp. y hongos micorrízicos arbusculares en un cultivo de cebolla (*Allium fistulosum*). *Entramado*. 13 (2): 250-257. <http://www.scielo.org.co/pdf/entra/v13n2/1900-3803-entra-13-02-00250.pdf>.
- Mora, J. (2006). La actividad microbiana: Un indicador integral de la calidad del suelo. *Revista Luna Azul, Universidad de Caldas Colombia*. 5: 6-9. http://lunazul.ucaldas.edu.co/downloads/Lunazul5_6_9.pdf.
- Moreno, L. y Galvis F. (2013). Potencial biofertilizante de bacterias diazótrofias aisladas de muestras de suelo rizosférico. *Rev. Pastos y Forrajes*. 36(1): 33-37.
- Nour, S., Cleyet, J., Beck, D., Effosse, A. y Fernandez, M. (1994). Genotypic and phenotypic diversity of *Rhizobium* isolated from chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Can. J. Microbiol.* 40: 345 - 354.
- Ogata, K., y Zúñiga, D. (2008). Estudio de la microflora de la rizósfera de *Caesalpinia spinosa* en la provincia de Huánuco. *Revista Zonas Áridas*. 191 - 208.
- Ongena, M., Duby, F., Jourdan, E., Beaudry, T., Jadin, V., Dommes, J. y Thonart, P. (2005). *Bacillus subtilis* M4 decreases plant susceptibility towards fungal pathogens by increasing root resistance associated with differential gene expression. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 67: 692- 698.
- ORGANICSA (2005). Rotación y asocio de cultivo en áreas agrícolas. www.ORGANICSA.net.
- Page, W. y Shivprasad, D. (1991). *Azotobacter salinestris* sp nov., a sodium - dependent, microaerophilic, and aeroadaptative nitrogen fixing bacterium. *J. Syst. Bacteriol.* 41: 369-376.
- Paul, A. y Clark, E. (1989). Soil microbiology and biochemistry. San Diego : Academic press Inc. 273 p.
- Pedraza, O., Teixeira, K., Fernández, A., García, I., Baca, B., Azcón, R. et al. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Revisión. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropec.* 11: 155-164. Doi: 10.21930/rcta.vol11_num2_art:206.



- Pérez, J. y Sánchez D. (2017). Caracterización y efecto de *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Pseudomonas* asociadas al *Ipomoea batatas* del Caribe Colombiano. *Rev. Colombiana de Biotecnología*. XIX (2): 35-46. <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v19n2/0123-3475-biote-19-02-00035.pdf>.
- Peter, A., Barker, A., Marugg, J., Weisbeek P. y Schippers, B. (1987). Bioassay for studying the role of siderophores in potato growth stimulation by *Pseudomonas* spp. in short potato rotations. *Soil Biol. Biochem.* 19: 443-449.
- Poorter, H. (2002). Plant growth and carbon economy. En: Encyclopedia of life science, Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group.
- Quille, J. (2015). Efecto de la inoculación de *Azotobacter chroococcum* y niveles de fertilización nitrogenada en el rendimiento de la variedad cebolla roja Ilabaya (*Allium cepa* L.). Tesis de Ing. Agrónomo. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna – Perú. 109 p. http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/1774/648_2015_quille_mamani_ja_fcag_agronomia.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Ramos, F. (1992). Genética de la regulación de la asimilación de nitrato en *Azotobacter vinelandii* Sevilla - España.
- Ramos, E. y Zúñiga D. (2008). Efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio. *Rev. Ecología Aplicada*. 7 (1,2): 123-130. <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v7n1-2/a15v7n1-2.pdf>.
- Ramos, E. y Zúñiga D. (2008). Efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio. *Rev. Ecología Aplicada*. 7(1,2): 123-130. <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v7n1-2/a15v7n1-2.pdf>.
- Rao, N. (1999). Soil microorganisms and plant growth. New Delhi - India: Oxford and IBH Publ.
- Read, J. (1993). The mycorrhizal mycelium. In: Mycorrhizal Functioning, An Integrative Plant-Fungal Process. Allen, M. (ed.). Chapman and Hall. New York. p. 102-103.
- Richardson, E., Barea J., McNeill, A. y Prigent, C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321: 305-339.
- Rivera, Y., Moreno, L., Herrera, M. y Romero, M. (2016). La toxicidad por aluminio (Al³⁺) como limitante del crecimiento y la productividad agrícola: el caso de la palma de aceite. *Rev. Palmas*. 37 (1): 11-23.



- Rodríguez, L. (2000). Densidad de población vegetal y producción de materia seca. *Revista COMALFI*. 27(1-2): 31-38.
- Rodríguez, M. (1995). Microorganismos libres fijadores de nitrógeno. pp. 105-126. In: R. Ferrera-Cerrato y J. Pérez M. (eds.). *Agromicrobiología. Elemento útil en la agricultura*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Rodríguez, M. (2015). Efecto de rizobacterias *Azotobacter*, *Acetobacter* y *Azospirillum* sp, sobre plántulas de Tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Tesis de Ing. Agrónomo en Producción. División de Agronomía, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila – México. 65 p.
- Rojas, C. (2015). Interpretación de la disponibilidad de fósforo en los suelos de Chile. Centro Regional de Investigación INIA la Platina.
- Rosas, D., Ortiz, H., Herrera, J. y Leyva, O. (2016). Revalorización de algunos residuos agroindustriales y su potencia de aplicación a suelos agrícolas. *Revista Agroproductividad*. 9 (8): 18-23.
- Russell, W. (1992). Crecimiento y Funcionamiento de las raíces. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas. Ed Mundi, Prensa Madrid: 1045 p.
- Sadeghian, S. y Adriana, L. (2014). Variabilidad del suelo en lotes cafeteros. Manizales: Cenicafé.
- Salih, M., Yonka, A., Abdul, A. y Munam, B. (1989). Availability of phosphorous in calcareous soil treated with rock phosphate or superphosphate as affected by phosphate dissolving fungi. *Plant Soil* 120: 181-185.
- Salisbury, F. y Ross, C. (1994). Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica S.A., México. 759 p.
- Sánchez, B. y Pérez, J. (2018). Caracterización y evaluación de PGPRs sobre el crecimiento de plántulas de *Dioscorea rotundata* in vitro. *Agronomía Costarricense*. 42 (2): 75-91. Doi:10.15517/rac.v42i2.33780.
- Sánchez, D., Gómez, R., Garrido, M., y Bonilla, R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 3 (7): 1401-1415.
- Sarabia, O., Madrigal, M., Martínez M. y Carreón, Y. (2010). Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones biológicas. *Rev. DES Cienc. Biol. Agropec*. 12: 65-71.
- Sashidhar, B. y Podile, R. (2009). Transgenic expression of glucose dehydrogenase in



- Azotobacter vinelandii* enhances mineral phosphate solubilization and growth of sorghum seedlings. *Microbial biotechnology*. 2 (4): 521-529.
- Selvakumar, G., Reetha, S. y Thamizhiniyan, P. (2012). Response of biofertilizers on growth, yield attributes and associated protein profiling changes of blackgram (*Vigna mungo* L. Hepper). *World Applied Sciences Journal*. 16 (10): 1368-1374.
- Shaukat, K., Afrasayab, S. y Hasnain, S. (2006). Growth responses of *Helianthus annuus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizers. *International Journal of Agricultural Research*. 1(6): 573-581.
- Shikina, P. (1961). Effect of organo-mineral and bacterial fertilizers on yield utilization and quality of potato tubers. *Izv. Akad. Nauk. Kazakh. SSR. Sev. Bot. Pochvoved.* 4: 3-14.
- Sidoti, B. y Caucota, D. (2010). Influencia de la fertilización nitrogenada sobre el cultivo de ajo. *Comunicaciones - Publicación del Valle Inferior, N° 64*. p. 4.
- Sotelo, L., Jiménez, J., De Zan, A. y Cueto, M. (2012). Efecto de inoculación de microorganismos en crecimiento de rábano (*Raphanus sativus*). *Rev. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 10 (1): 21-31. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v10n1/v10n1a04.pdf>.
- Sparling, G., Speir, T. & Whale, K. (1986). Changes in microbial biomass C, ATP content, soil phosphomonoesterase and phosphodiesterase activity following air-drying of soils. *Soil Biol Biochem*. 18 (4): 363-370.
- Srinivasan, K. y Mathivanan, N. (2009). Biological control of sunflower necrosis virus disease with powder and liquid formulations of plant growth promoting microbial consortia under field conditions. *Biological Control*. 51: 395-402.
- Srivastava, S. y Singh, J. (1991). Microbial C, N and P in dry tropical forest soils: effects of alternate land-uses and nutrient flux. *Soil. Biol. Biochem*. 23:117-124.
- Tarafdar, J. (1987). Activity of enzymes added to soils. Polish. *Journal of Soil Science*. 20:5-10.
- Tasaka, M., Kato, T. y Fukaki H. (1999). The endodermis and shoot gravitropism. *Trends in Plant Sciences*. 4: 103-107.
- Tejera, N., Lluch C., Martínez M. y González J. (2005). Isolation and characterization of *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosphere. *Plant and Soil*. 27.
- Tesfay, Z., Bertling, I., Odindo, O., Greenfield, L. y Workneh, S. (2011). Growth



- responses of tropical onion cultivars to photoperiod and temperature based on growing degree days. *Afr. J. Biotechnol.* 10(71):15875-15882.
- Toro, M., Azcón y Barea J. (1997). Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing Rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (32P) and nutrient cycling. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 4408–4412.
- Torriente, D. (2010). Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar. Perspectivas de su uso en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 31(1): 33 - 37.
- Tsavkelova, A., Klimova, S., Cherdyntseva, T. y Netrusov, A. (2006). Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review. *Appl. Biochem. Microbiol.* 42: 117-126.
- Vessey, J. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571-586.
- Viteri, R. (2002). Selección de cultivos de cobertura con potencial para el desarrollo agrícola sostenible en el municipio de Samacá, Boyacá. Tesis de Maestría en desarrollo rural. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. 150 p.
- West, A., Sparling, G., Speir, T. y Wood, J. (1988). Comparison of microbial C, N-flush and ATP, and certain enzyme activities of different textured soils subject to gradual drying. *Aust J Soil Res.* 26: 217-229.
- Yamaguchi, J., Callum, C. y Shaw, M. (2008). Biochemical and genetic analysis of carbohydrate accumulation in onion (*Allium cepa* L.). *Plant & Cell Physiology*, 49 (5): 730-739.
- Yasmin, F., Othman, R., Sijam, K., y Saad, S. (2010). Characterization of beneficial properties of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from sweet potato rhizosphere. *African Journal of Microbiology Research.* 3 (11), 815-821.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L. y Miller, W. (2000). A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput. Biol.* 7: 203 - 214.
- Zhang, F., Dashti, N., Hynes, H. y Smith, D. (1996). Plant growth promoting rhizobacteria and soybean (*Glicine max* L. Merr.) nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root zone temperatures. *Ann. Bot.* 77: 453-459.

ANEXOS

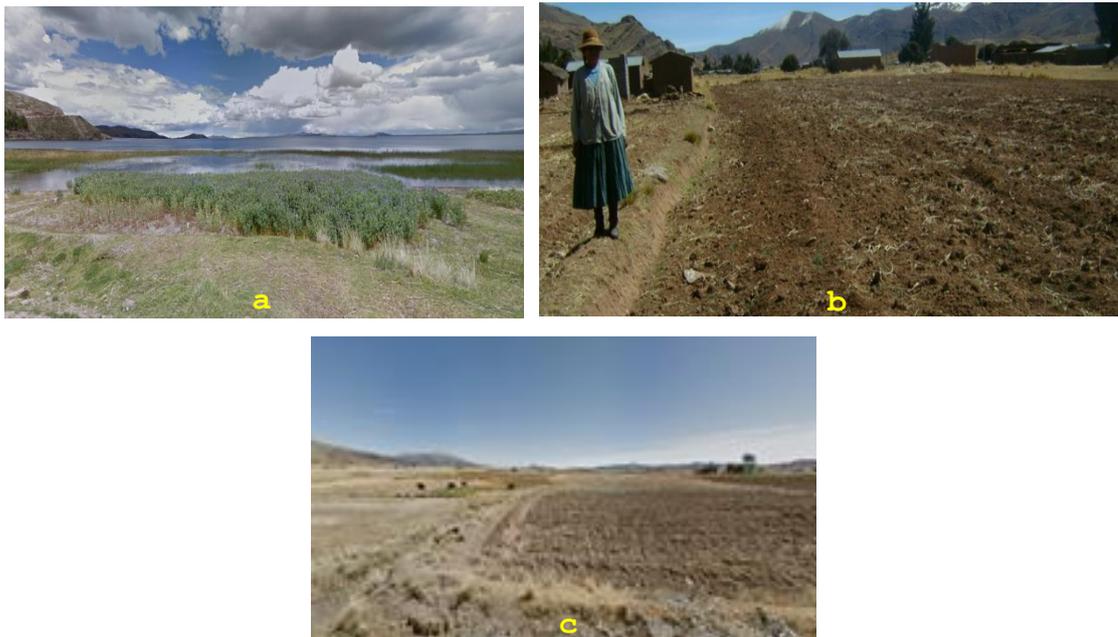


Figura 9. Comunidades de muestreo Unocolla (a), Chañohagua (b) y Silluniamaya (c) de suelos para recuento y aislamiento de *Azotobacter* sp.



Figura 10. Muestras de suelo colectadas en tres campos de cultivo de las comunidades de Unocolla, Chañohagua y Silluniamaya.



Figura 11. Compuestos químicos utilizados para preparar el medio mineral sin nitrógeno para el aislamiento de bacterias *Azotobacter* sp.



Figura 12. Preparación de diluciones 10^{-1} , a partir del cual se realizaron las diluciones de 10^{-2} hasta 10^{-8} para recuento de *Azotobacter* sp.

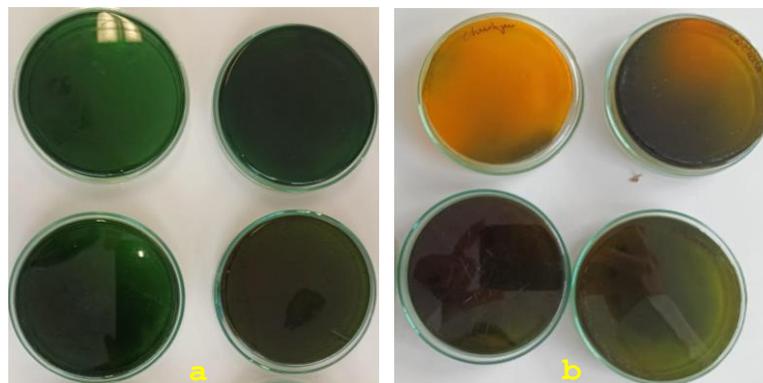


Figura 13. Placas Petri con medio mineral sin nitrógeno pre cultivados (a) y pos cultivados con muestras de suelo (b).

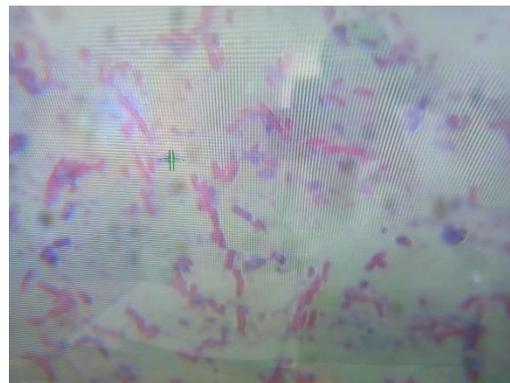


Figura 14. Observación de la tinción de Gram de colonias de *Azotobacter* sp.

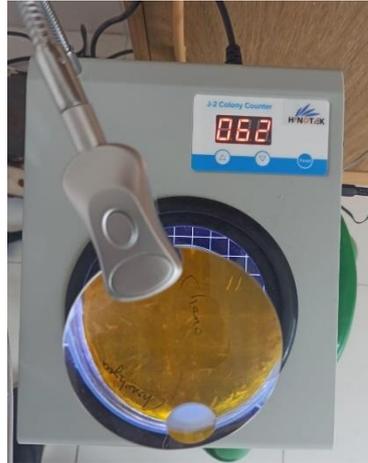


Figura 15. Recuento de colonias de *Azotobacter* sp en placas Petri aislados de campos de cultivo de tres comunidades de la región Puno.



Figura 16. Preparación de las diluciones (10^{-2} a 10^{-8}) de muestras de suelo de tres comunidades de la región Puno.

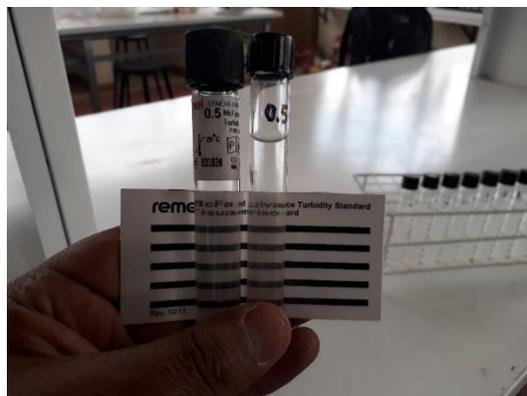


Figura 17. Preparación de soluciones inoculantes de bacterias *Azotobacter* sp mediante la técnica de McFarland.



Figura 18. Plántulas de cebolla (*Allium cepa*) previo a la inoculación de *Azotobacter* sp.



Figura 19. Plántulas de cebolla (*Allium cepa*) pos inoculación con tres diluciones de *Azotobacter* sp y su tratamiento control.



Figura 20. Mediciones biométricas de las plántulas de cebolla (*Allium cepa*) al finalizar el tiempo de tratamiento con *Azotobacter* sp.

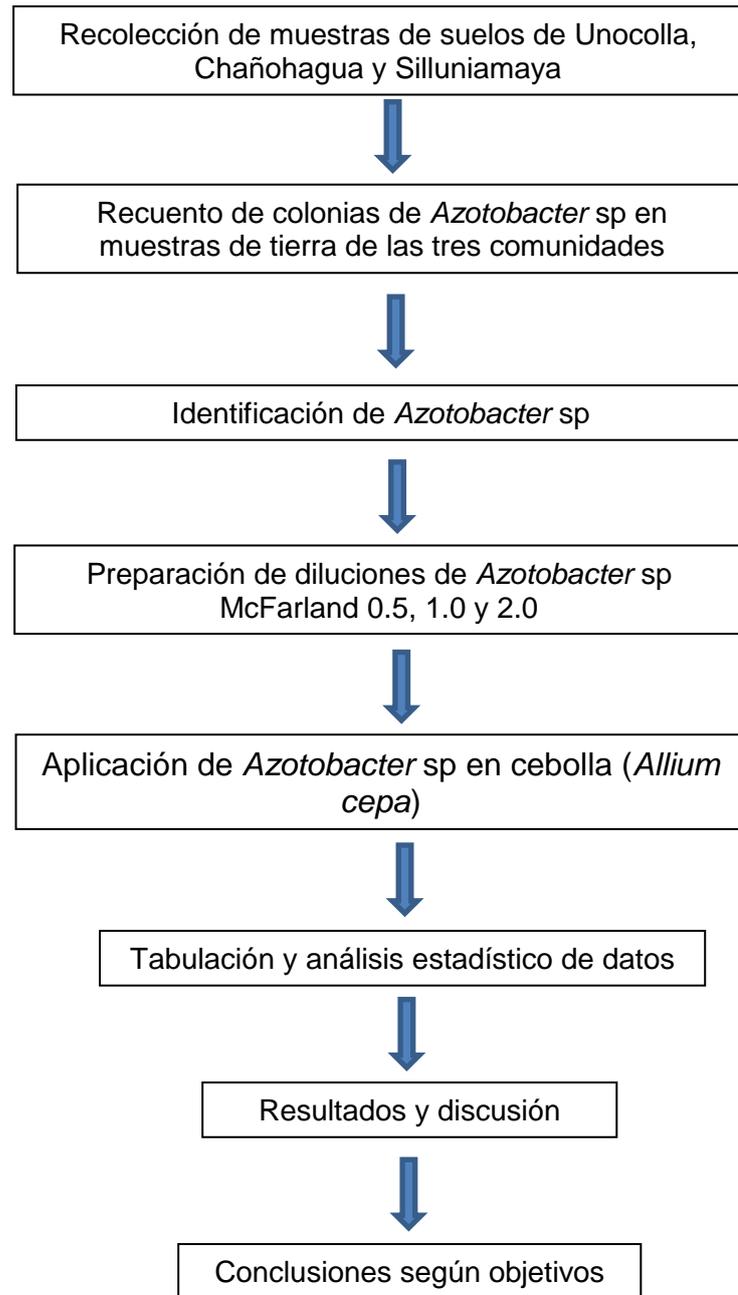


Figura 21. Flujograma del trabajo de investigación

One-Way ANOVA (Welch's)

	F	df1	df2	p
RECUELTOS (x10 e6)	4.07	2	15.0	0.039

Assumption Checks

Normality Test (Shapiro-Wilk)

	W	p
RECUELTOS (x10 e6)	0.946	0.170

Note. A low p-value suggests a violation of the assumption of normality

Homogeneity of Variances Test (Levene's)

	F	df1	df2	p
RECUELTOS (x10 e6)	3.09	2	24	0.064

Post Hoc Tests

Tukey Post-Hoc Test – RECUELTOS (x10 e6)

		Unocolla	Chanohagua	Silluniamaya
Unocolla	Mean difference	—	0.111	-11.4
	p-value	—	1.000	0.044
Chanohagua	Mean difference		—	-11.6
	p-value		—	0.042
Silluniamaya	Mean difference			—
	p-value			—

Figura 22. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para recuentos de *Azotobacter* sp en suelos de tres comunidades de la región Puno.

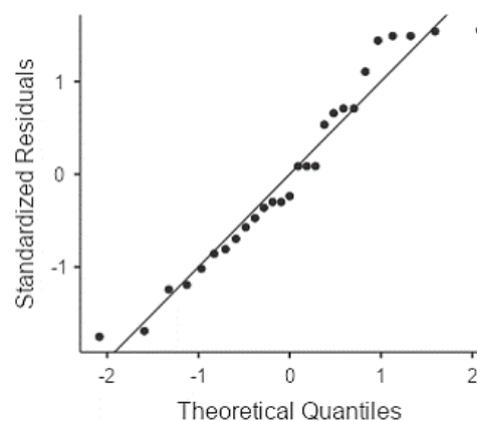


Figura 23. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para recuentos de *Azotobacter* sp en suelos de tres comunidades de la región Puno.

One-Way ANOVA (Welch's)

	F	df1	df2	p
RECIENTOS (x10 e6)	1.79	2	14.4	0.202

Assumption Checks

Normality Test (Shapiro-Wilk)

	W	p
RECIENTOS (x10 e6)	0.984	0.939

Note. A low p-value suggests a violation of the assumption of normality

Homogeneity of Variances Test (Levene's)

	F	df1	df2	p
RECIENTOS (x10 e6)	2.46	2	24	0.107

Figura 24. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) para recuentos de *Azotobacter* sp en tres meses de muestreo en la región Puno.

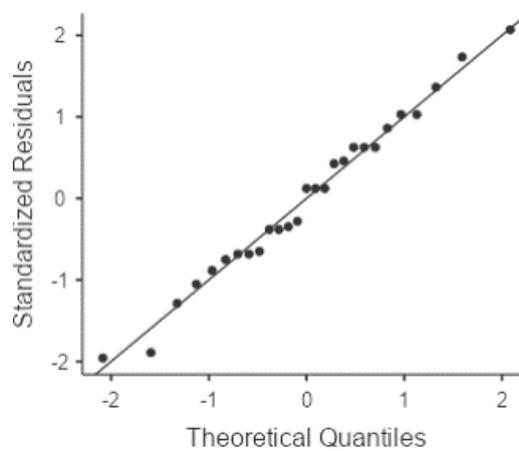


Figura 25. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para recuentos de *Azotobacter* sp en tres meses de muestreo en la región Puno.

One-Way ANOVA (Welch's)

	F	df1	df2	p
LONG_RAÍZ	50.9	3	8.86	< .001

Assumption Checks

Normality Test (Shapiro-Wilk)

	W	p
LONG_RAÍZ	0.953	0.415

Note. A low p-value suggests a violation of the assumption of normality

Homogeneity of Variances Test (Levene's)

	F	df1	df2	p
LONG_RAÍZ	0.175	3	16	0.912

Post Hoc Tests

Tukey Post-Hoc Test – LONG_RAÍZ

		C_1	C_2	C_3	CONTROL
C_1	Mean difference	—	-1.52	-4.54	0.300
	p-value	—	0.014	< .001	0.899
C_2	Mean difference		—	-3.02	1.820
	p-value		—	< .001	0.003
C_3	Mean difference			—	4.840
	p-value			—	< .001
CONTROL	Mean difference				—
	p-value				—

Figura 26. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para longitud de raíces (LONG_RAÍZ) en cebolla (*Allium cepa*) inoculadas con tres concentraciones de *Azotobacter* sp.

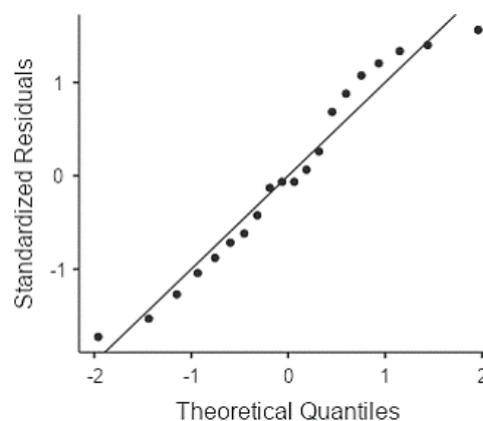


Figura 27. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para longitud de raíces (LONG_RAÍZ) en cebolla (*Allium cepa*) inoculadas con tres concentraciones de *Azotobacter* sp.

One-Way ANOVA (Welch's)

	F	df1	df2	p
ALT_PLANTA	280	3	8.66	< .001

Assumption Checks

Normality Test (Shapiro-Wilk)

	W	p
ALT_PLANTA	0.979	0.926

Note. A low p-value suggests a violation of the assumption of normality

Homogeneity of Variances Test (Levene's)

	F	df1	df2	p
ALT_PLANTA	4.49	3	16	0.018

Post Hoc Tests

Tukey Post-Hoc Test – ALT_PLANTA

		C_1	C_2	C_3	CONTROL
C_1	Mean difference	—	-5.02	-12.70	1.18
	p-value	—	< .001	< .001	0.309
C_2	Mean difference		—	-7.68	6.20
	p-value		—	< .001	< .001
C_3	Mean difference			—	13.88
	p-value			—	< .001
CONTROL	Mean difference				—
	p-value				—

Figura 28. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para altura de planta (ALT_PLANTA) en cebolla (*Allium cepa*) inoculadas con tres concentraciones de *Azotobacter* sp.

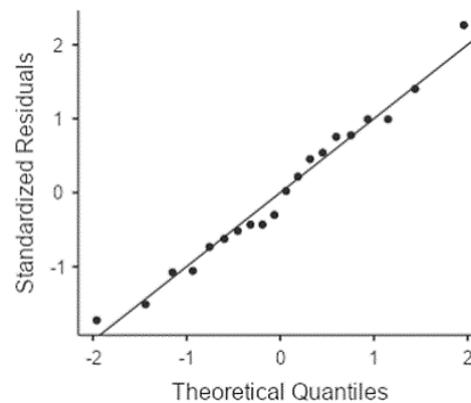


Figura 29. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para altura de planta (ALT_PLANTA) en cebolla (*Allium cepa*) inoculadas con tres concentraciones de *Azotobacter* sp.

One-Way ANOVA (Welch's)

	F	df1	df2	p
GROS_TALLO	30.0	3	8.87	< .001

Assumption Checks

Normality Test (Shapiro-Wilk)

	W	p
GROS_TALLO	0.912	0.071

Note. A low p-value suggests a violation of the assumption of normality

Homogeneity of Variances Test (Levene's)

	F	df1	df2	p
GROS_TALLO	0.168	3	16	0.917

Post Hoc Tests

Tukey Post-Hoc Test – GROS_TALLO

		C_1	C_2	C_3	CONTROL
C_1	Mean difference	—	-0.280	-0.480	-0.0200
	p-value	—	< .001	< .001	0.984
C_2	Mean difference	—	—	-0.200	0.2600
	p-value	—	—	0.012	0.001
C_3	Mean difference	—	—	—	0.4600
	p-value	—	—	—	< .001
CONTROL	Mean difference	—	—	—	—
	p-value	—	—	—	—

Figura 30. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para grosor de tallo (GROS_TALLO) en cebolla (*Allium cepa*) inoculadas con tres concentraciones de *Azotobacter* sp.

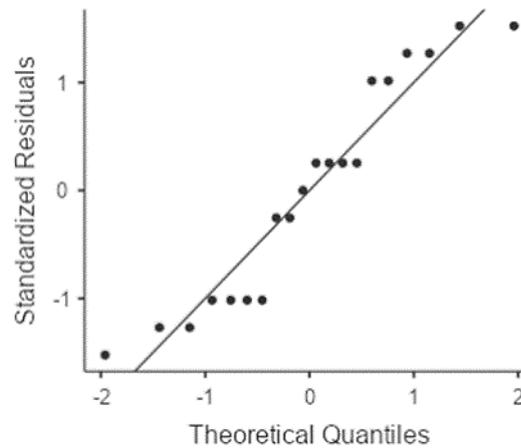


Figura 31. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para grosor de tallo (GROS_TALLO) en cebolla (*Allium cepa*) inoculadas con tres concentraciones de *Azotobacter* sp.

One-Way ANOVA (Welch's)				
	F	df1	df2	p
DIÁM_BULBO	46.5	3	8.39	< .001

Assumption Checks

Normality Test (Shapiro-Wilk)		
	W	p
DIÁM_BULBO	0.982	0.955

Note: A low p-value suggests a violation of the assumption of normality

Homogeneity of Variances Test (Levene's)				
	F	df1	df2	p
DIÁM_BULBO	2.35	3	16	0.110

Post Hoc Tests

Tukey Post-Hoc Test – DIÁM_BULBO					
		C_1	C_2	C_3	CONTROL
C_1	Mean difference	—	-0.480	-1.120	0.140
	p-value	—	0.001	< .001	0.544
C_2	Mean difference		—	-0.640	0.620
	p-value		—	< .001	< .001
C_3	Mean difference			—	1.260
	p-value			—	< .001
CONTROL	Mean difference				—
	p-value				—

Figura 32. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para diámetro de bulbo (DIÁM_BULBO) en cebolla (*Allium cepa*) inoculadas con tres concentraciones de *Azotobacter* sp.

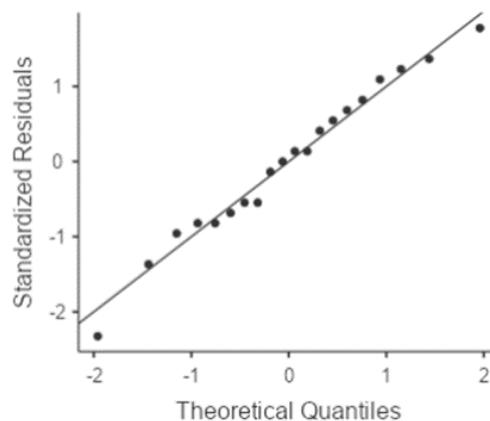


Figura 33. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para diámetro de bulbo (DIÁM_BULBO) en cebolla (*Allium cepa*) inoculadas con tres concentraciones de *Azotobacter* sp.

One-Way ANOVA (Welch's)

	F	df1	df2	p
PESO_TOTAL	63.7	3	8.19	< .001

Assumption Checks

Normality Test (Shapiro-Wilk)

	W	p
PESO_TOTAL	0.956	0.472

Note. A low p-value suggests a violation of the assumption of normality

Homogeneity of Variances Test (Levene's)

	F	df1	df2	p
PESO_TOTAL	1.95	3	16	0.162

Post Hoc Tests

Tukey Post-Hoc Test – PESO_TOTAL

		C_1	C_2	C_3	CONTROL
C_1	Mean difference	—	-3.36	-8.42	0.660
	p-value	—	< .001	< .001	0.740
C_2	Mean difference		—	-5.06	4.020
	p-value		—	< .001	< .001
C_3	Mean difference			—	9.080
	p-value			—	< .001
CONTROL	Mean difference				—
	p-value				—

Figura 34. Análisis de varianza, pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk y Levene) y prueba de Tukey para peso total (PESO_TOTAL) en cebolla (*Allium cepa*) inoculadas con tres concentraciones de *Azotobacter* sp.

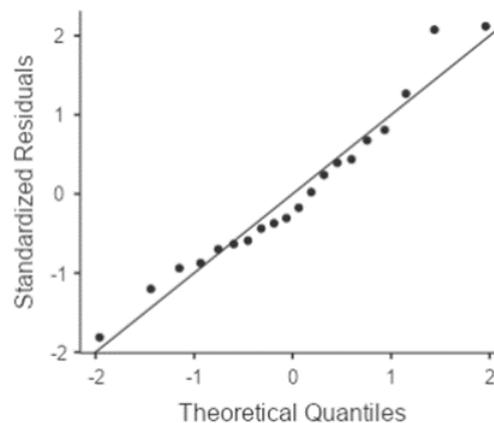


Figura 35. Gráfico Q-Q plot de independencia de datos para peso total (PESO_TOTAL) en cebolla (*Allium cepa*) inoculadas con tres concentraciones de *Azotobacter* sp.



Universidad Nacional del Altiplano de Puno
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Biología
Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico
Laboratorio de Botánica y Biotecnología



Registro: 001-2021

CONSTANCIA

AUTORIDAD QUE SUSCRIBE, **DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO – PERÚ.**

HACE CONSTAR:

Que el (la) Bachiller **ZULLY AYLIN GAMARRA CHAMBI**, egresado (a) de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, ha realizado los análisis bacterianos y experimentos de su trabajo de investigación (Tesis) titulado: **EFECTO DE BACTERIAS *Azotobacter* sp EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CEBOLLA (*Allium cepa*) EN CONDICIONES DE LABORATORIO**, en el laboratorio de Botánica y Biotecnología, del Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico de la Escuela Profesional de Biología, entre los meses de diciembre a febrero del 2020.

Se le expide la presente Constancia a solicitud del (a) interesado (a) para los fines que se estime por conveniente.

Puno, 13 de julio del 2021.



UNA
PUNO

Firmado digitalmente por LAURA
CHAUCA DE MEZA Sra FAU
20145498170 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 14.07.2021 19:07:11 -05:00

**M. Sc. EVA LAURA CHAUCA
DECANO
FCCBB – UNA Puno**

Constancia de ejecución de tesis.