



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



**EFFECTO DE *Azotobacter* sp EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS
Y EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE FRESA (*Fragaria* sp)
AISLADA DE SUELOS DE LOS DISTRITOS DE CHALLABAMBA
(CUSCO) Y ACORA (PUNO)**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. MABEL LUZA CCUNO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO - PERÚ

2024



Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

**EFFECTO DE Azotobacter sp EN LA GERMI
NACIÓN DE SEMILLAS Y EL CRECIMIENT
O DE PLÁNTULAS DE FRESA (Fragaria sp
) AISLADA DE SUELOS DE LOS DISTRITO
S DE CHALLABAMBA (CUSCO) Y ACORA
(PUNO)**

AUTOR

MABEL LUZA CCUNO

RECuento DE PALABRAS

19546 Words

RECuento DE CARACTERES

107727 Characters

RECuento DE PÁGINAS

103 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

6.6MB

FECHA DE ENTREGA

Apr 5, 2024 9:23 AM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Apr 5, 2024 9:25 AM GMT-5

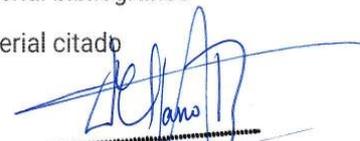
● 13% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 12% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 6% Base de datos de trabajos entregados
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)


Dr. Juan José Paulo Roqui
Biólogo Dr. Sc.
C.B.P. 4849



DEDICATORIA

De una forma muy especial a Dios por la vida, salud, sabiduría, y paciencia para lograr mis objetivos sobre todo por protegerme en todo momento.

Con todo el amor que la tengo a mi cariñosa madre: Justina Ccuno por impulsarme cada día y ser mejor, por su apoyo incondicional que me brinda.

Con mucho cariño a mis hermanos: Martha, Sami, Waldir y mi apreciada prima Sonia por darme su motivación y su alegría en todo el trayecto de mis estudios.

Mabel Luza Ccuno



AGRADECIMIENTOS

A Dios, a la vida, al universo por ser realidad.

A mi querida Universidad Nacional del Altiplano y apreciados docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas por sus enseñanzas compartidas en toda mi formación académica

A mi director de tesis Dr. Juan José Pauro Roque por su paciencia y constancia en la realización de la investigación.

A mi amada madre por su apoyo incondicional durante todo el trayecto de mis estudios superiores.

A mis queridos hermanos Malú, Samantha y Waldir por el apoyo en la culminación de mi tesis y mi querida prima Sonia por todas las experiencias vividas durante mi vida universitaria.

De manera especial a mis amistades de la universidad: Lilian, Eric por el avance del proyecto de tesis.

A todas las personas que me apoyaron directa e indirectamente con la realización de este proyecto de investigación infinitas gracias.

Mabel Luza Ccuno



ÍNDICE GENERAL

| | Pág. |
|---|-----------|
| DEDICATORIA | |
| AGRADECIMIENTOS | |
| ÍNDICE GENERAL | |
| ÍNDICE DE FIGURAS | |
| ÍNDICE DE TABLAS | |
| ÍNDICE DE ACRÓNIMOS | |
| RESUMEN | 11 |
| ABSTRACT..... | 12 |
| CAPÍTULO I | |
| INTRODUCCIÓN | |
| 1.1 OBJETIVO GENERAL | 15 |
| 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 15 |
| CAPÍTULO II | |
| REVISIÓN DE LITERATURA | |
| 2.1 ANTECEDENTES | 16 |
| 2.2 MARCO TEÓRICO | 21 |
| 2.2.1 Bacterias diazotróficas | 21 |
| 2.2.2 <i>Azotobacter</i> sp..... | 23 |
| 2.2.3 Factores que favorecen a los microorganismos en la rizósfera..... | 25 |
| 2.2.4 Inoculación de bacterias biofertilizantes en plantas..... | 26 |
| 2.2.5 Germinación de semillas | 28 |
| 2.2.6 La fresa (<i>Fragaria</i> sp)..... | 33 |
| 2.2.7 Parámetros biométricos del crecimiento vegetal..... | 35 |



| | | |
|-------------------------------|---|----|
| 2.2.8 | Requerimientos ambientales | 36 |
| 2.2.9 | Caracterización de los suelos | 38 |
| CAPÍTULO III | | |
| MATERIALES Y MÉTODOS | | |
| 3.1 | ZONA DE ESTUDIO..... | 42 |
| 3.2 | DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN | 43 |
| 3.3 | EVALUACIÓN DEL EFECTO DE <i>Azotobacter</i> sp EN EL PROCESO DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE FRESA (<i>Fragaria</i> sp)..... | 44 |
| 3.4 | EVALUACIÓN DEL EFECTO DE <i>Azotobacter</i> sp EN PLÁNTULAS DE FRESA (<i>Fragaria</i> sp)..... | 49 |
| CAPÍTULO IV | | |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | | |
| 4.1 | EFECTO DE <i>Azotobacter</i> sp EN EL PROCESO DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE FRESA (<i>Fragaria</i> sp) | 53 |
| 4.2 | EFECTO DE <i>Azotobacter</i> sp EN PLÁNTULAS DE FRESA (<i>Fragaria</i> sp) DURANTE DOS MESES DE CULTIVO..... | 59 |
| V. | CONCLUSIONES..... | 75 |
| VI. | RECOMENDACIONES | 76 |
| VII. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 77 |
| | ANEXOS..... | 90 |

ÁREA: Ciencias Biomédicas

SUB LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Diagnóstico y Epidemiología.

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 09 de abril del 2024



ÍNDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|---|------|
| Figura 1 Zonas de muestreo en los centros poblados de Mecllaypata – Challabamba, Cusco (Zona 1) y Villa Socca – Acora, Puno (Zona 2). | 42 |
| Figura 2 Prueba de Tukey de los porcentajes de germinación en semillas de fresa (<i>Fragaria</i> sp.) inoculadas con <i>Azotobacter</i> sp. | 54 |
| Figura 3 Prueba de Tukey del índice de efectividad de inoculación (IEI) de la longitud de raíces de fresa (<i>Fragaria</i> sp) post inoculación con <i>Azotobacter</i> sp. | 60 |
| Figura 4 Prueba de Tukey del índice de efectividad de inoculación (IEI) de la longitud del tallo de plántulas de fresa (<i>Fragaria</i> sp) pos inoculación con <i>Azotobacter</i> sp. | 66 |
| Figura 5 Prueba Tukey del índice de efectividad de inoculación (IEI) del peso de plántulas de fresa (<i>Fragaria</i> sp) post inoculación con <i>Azotobacter</i> sp. | 70 |
| Figura 6 Inoculación de semillas de fresa con <i>Azotobacter</i> sp en concentraciones estándar 0.5 y 1.0 de McFarland. | 92 |
| Figura 7 Resultados de los tratamientos con inoculaciones de <i>Azotobacter</i> sp y sus respectivos controles. | 93 |
| Figura 8 Invernadero de fresas y toma de muestra en Challabamba - Cusco. | 93 |
| Figura 9 Invernadero de fresas y toma de muestra de suelo en Acora – Puno. | 94 |
| Figura 10 Zona de muestreo invernadero de Acora, Puno – Perú. | 94 |
| Figura 11 Muestras de suelo colectadas de Acora y Challabamba y reactivos para el aislamiento de <i>Azotobacter</i> sp. | 95 |
| Figura 12 Preparación de medios de cultivo para el aislamiento de <i>Azotobacter</i> sp. | 95 |



| | | |
|------------------|--|-----|
| Figura 13 | Esterilización y plaqueo de medios de cultivo para <i>Azotobacter</i> sp..... | 96 |
| Figura 14 | Pesado de muestras de suelo, determinación del pH y diluciones de las muestras de suelo en agua destilada estéril..... | 96 |
| Figura 15 | Cultivo por extensión de las diluciones de suelo e incubación en estufa a 28 °C..... | 97 |
| Figura 16 | Resultados del aislamiento de <i>Azotobacter</i> sp a partir de suelos de Acora y Challabamba, luego de 4 a 5 días de cultivo..... | 97 |
| Figura 17 | Pruebas de catalasa y oxidasa a las colonias de <i>Azotobacter</i> sp. | 98 |
| Figura 18 | Obtención de concentraciones de <i>Azotobacter</i> sp según el estándar McFarland..... | 98 |
| Figura 19 | Medición inicial de longitud (cm) de raíces y peso de plántulas de fresa. | 99 |
| Figura 20 | Inoculación de raíces de plántulas de fresa en concentraciones de estándar 0.5 y 1.0 McFarland de <i>Azotobacter</i> sp por un tiempo de 30 minutos..... | 99 |
| Figura 21 | Siembra de plántulas de fresa en arena e inoculación con soluciones nutritivas en invernadero..... | 100 |
| Figura 22 | Plántulas de fresa (<i>Fragaria</i> sp) en crecimiento pos inoculación con <i>Azotobacter</i> sp..... | 100 |



ÍNDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|--|-------------|
| Tabla 1 Porcentajes de germinación de semillas de fresa (<i>Fragaria</i> sp) inoculadas con <i>Azotobacter</i> sp procedente de dos regiones del Perú..... | 53 |
| Tabla 2 Índice de efectividad de inoculación (IEI) de <i>Azotobacter</i> sp en el crecimiento de raíces de plántulas de fresa (<i>Fragaria</i> sp). | 59 |
| Tabla 3 Índice de efectividad de inoculación (IEI) de <i>Azotobacter</i> sp en el crecimiento de la longitud de tallos en plántulas de fresa (<i>Fragaria</i> sp). | 64 |
| Tabla 4 Índice de efectividad de inoculación (IEI) de <i>Azotobacter</i> sp en el incremento de peso de plántulas de fresa (<i>Fragaria</i> sp). | 68 |
| Tabla 5 Parámetros de pH y conductividad eléctrica de muestras de suelos procedentes de los distritos de Acora y Challabamba. | 90 |
| Tabla 6 Prueba de análisis de varianza y de Tukey de los porcentajes de germinación de semillas de fresa (<i>Fragaria</i> sp) inoculadas con <i>Azotobacter</i> sp. | 90 |
| Tabla 7 Prueba de análisis de varianza y de Tukey de IEI de la longitud de raíces de fresa (<i>Fragaria</i> sp) pos inoculación con <i>Azotobacter</i> sp. | 91 |
| Tabla 8 Prueba de análisis de varianza y de Tukey del IEI de la longitud de tallos de fresa (<i>Fragaria</i> sp) pos inoculación con <i>Azotobacter</i> sp. | 91 |
| Tabla 9 Prueba de análisis de varianza y de Tukey del IEI del peso plántulas de fresa (<i>Fragaria</i> sp) pos inoculación con <i>Azotobacter</i> sp..... | 92 |



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

| | |
|--------------|--------------------------------------|
| °C: | grados centígrados |
| C. V.: | coeficiente de variabilidad |
| D. E.: | desviación estándar |
| et al.: | y colaboradores |
| g: | gramo |
| T1, T2 y T3: | muestras 1, 2 y 3 |
| cm: | centímetros |
| P: | probabilidad |
| pH: | potencial de hidrogeniones |
| Prom: | promedio |
| IEI: | Índice de efectividad de inoculación |



RESUMEN

Azotobacter sp posee beneficios para el crecimiento vegetal, inoculada en semillas y plántulas de fresa es una alternativa al uso de agroquímicos que alteran las características del suelo y la calidad de los frutos. El objetivo fue: evaluar el efecto de *Azotobacter* sp en la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de fresa (*Fragaria* sp), aisladas de suelos de los distritos de Challabamba (Cusco) y Acora (Puno). El aislamiento se realizó en muestras de suelo, se prepararon concentraciones bacterianas equivalentes a los estándares 0.5 y 1 McFarland, donde se sumergieron semillas de fresa por 30 minutos, luego de dos semanas se determinó la germinación; a continuación, se inocularon en las raíces de las plántulas, luego de 60 días de cultivo, se determinó el índice de efectividad de inoculación (IEI) en raíces, tallos y peso total vegetal. Los resultados fueron: *Azotobacter* sp de Acora, en concentraciones 0.5 y 1 McFarland generaron 36.67 % y 56.00 % de germinación, IEI de 16.90 % y 6.64 % en raíces; 40.73 % y 20.46 % en tallos y de 35.58 % y 27.38 % en el peso de plántulas, respectivamente. Las bacterias de Challabamba en concentración 0.5 McFarland generó 41.33 % de germinación, IEI de 3.19 % en raíces, 17.00 % en tallos y 34.32 % en el peso de plántulas. Se concluye que *Azotobacter* sp aislada de suelos de Acora originaron los mayores porcentajes en germinación, IEI en raíces, tallos y peso de las plántulas, utilizando la concentración 0.5 McFarland, superando a la concentración 0.5 McFarland de bacterias de Challabamba.

Palabras clave: *Azotobacter* sp, Biometría de plántulas, *Fragaria* sp, Germinación, Inoculación, Raíz, Tallo.



ABSTRACT

Azotobacter sp has benefits for plant growth, inoculated in strawberry seeds and seedlings, it is an alternative to the use of agrochemicals that alter the characteristics of the soil and the quality of the fruits. The objective was: to evaluate the effect of *Azotobacter* sp on seed germination and growth of strawberry (*Fragaria* sp) seedlings, isolated from soils in the districts of Challabamba (Cusco) and Acora (Puno). The isolation was carried out in soil samples, bacterial dilutions equivalent to 0.5 and 1 McFarland standards were prepared, where strawberry seeds were immersed for 30 minutes, after two weeks germination was determined; Next, they were inoculated into the roots of the seedlings, after 60 days of cultivation, the inoculation effectiveness index (IEI) was determined in roots, stems and total plant weight. The results were: *Azotobacter* sp from Acora, in 0.5 and 1 McFarland dilutions generated 36.67% and 56.00% germination, IEI of 16.90% and 6.64% in roots; 40.73% and 20.46% in stems and 35.58% and 27.38% in the weight of seedlings, respectively. Challabamba bacteria at a 0.5 McFarland dilution generated 41.33% germination, IEI of 3.19% in roots, 17.00% in stems and 34.32% in seedling weight. It is concluded that *Azotobacter* sp isolated from Acora soils caused the highest percentages in germination, IEI in roots, stems and seedling weight, using the 0.5 McFarland dilution, surpassing the 0.5 McFarland dilutions of Challabamba bacteria.

Key words: *Azotobacter* sp, seedling biometry, *Fragaria* sp, germination, inoculation, root, stem.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Azotobacter sp es una bacteria de vida libre que habita los suelos, sintetiza hormonas vegetales, fija el nitrógeno atmosférico, solubiliza fosfatos, produce sideróforos e inclusive controla a 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 (González et al., 2018), debido al exagerado uso de insumos químicos en la producción agrícola, en la presente investigación fue aislada a partir de suelos de los distritos de Challabamba (Cusco) y Acora (Puno), que se encuentran ubicadas en diferentes altitudes, distritos y regiones del Perú, con la finalidad de evaluar su potencial biofertilizante.

La fresa (*Fragaria* sp), es una fruta fuente de vitamina C, posee antioxidantes, incrementa las defensas, posee propiedades antiinflamatorias, es ideal en dietas para perder peso, es depurativa y diurética, regula el tránsito intestinal, entre otros beneficios para la salud de los consumidores. En el Perú, las zonas de mayor producción de fresa son Barranca, Huaral, Huaura y Huacho en la región Lima. Curiosamente en el año 2020, la región Puno fue noticia al mencionar que el distrito de Acora sería el primer productor de fresa orgánica de altura, actualmente existen 4 biohuertos piloto en etapa de producción ubicados en los centros poblados de Amparani, Cucho Esqueña, Villa Socca y Fundo Molero, instaladas por la municipalidad distrital de Acora, posteriormente fueron replicadas progresivamente en alrededores de los poblados de la zona (Agencia Andina, 2020).



Este cultivo emergente y en crecimiento en el distrito de Acora, trae consigo el desgaste y la erosión de los suelos en los invernaderos, donde la aplicación de agroquímicos e insecticidas no sería lo recomendable debido a que incrementa la salinidad del suelo y las fresas son muy sensibles, en especial en la etapa de trasplante. Por otro lado, según informaciones periodísticas y comunicación personal con los productores, se viene aplicando estiércol en los procesos de abonamiento. Frente a ello, *Azotobacter* sp se constituye en una alternativa de biofertilizante orgánico con microorganismos propios del suelo. Por otra parte, se carece de información, si los aislamientos bacterianos procedentes de diferentes campos de cultivo, a pesar de pertenecer al mismo género, presenten efectos diferentes en la estimulación de la germinación y en el crecimiento de las plántulas de fresa.

En tal sentido *Azotobacter* sp aislada en suelos de dos distritos de las regiones de Cusco y Puno, fueron experimentadas para evaluar su potencial estimulante en la germinación de semillas y en el crecimiento de plántulas de fresa, los resultados obtenidos son alentadores para que a mediano plazo pueda convertirse en una propuesta microbiana de biofertilización económica no solo de fresa, si no de otros cultivos de consumo humano, que traería consigo el incremento de las economías de los agricultores.

La investigación contribuye al conocimiento científico en el campo de la Biotecnología Agrícola, donde se evaluó el efecto de *Azotobacter* sp aisladas de dos distritos y regiones del Perú, en los procesos de germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de fresa, mediante la determinación de indicadores biométricos como la longitud de las raíces, la altura y el peso total de las plántulas, para que posteriormente se sugiera la aplicación en especial en el distrito de Acora donde el cultivo es emergente. Por otro lado, este trabajo de investigación, es útil para el ámbito académico en la



formación de futuros profesionales relacionados al estudio de los suelos, y se constituirá en un documento útil en la toma de decisiones en el ámbito de la producción agropecuaria.

Por tal motivo el estudio tiene los siguientes objetivos:

1.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto de *Azotobacter* sp en la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de fresa (*Fragaria* sp) aislada de suelos de los distritos de Challabamba (Cusco) y Acora (Puno).

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de *Azotobacter* sp en el porcentaje de germinación de semillas de fresa (*Fragaria* sp) aislada de suelos de los distritos de Challabamba (Cusco) y Acora (Puno).
- Evaluar el efecto de *Azotobacter* sp en el incremento de longitud de raíces, tallos y el peso total de las plántulas de fresa (*Fragaria* sp), mediante el índice de efectividad de inoculación, aislada de suelos de los distritos de Challabamba (Cusco) y Acora (Puno).



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Constantino et al. (2011), en Morelos (México), evaluaron la aplicación de los biofertilizantes *Azotobacter chroococcum* y *Glomus intraradices*, donde la doble inoculación a nivel de semillas y plántulas originó el mayor crecimiento y el incremento de biomasa de plántulas de papaya en viveros, superando a la única inoculación en plántulas y una dosificación de materia orgánica entre 25 y 35 %; pero ambas inoculaciones individuales o ambos microorganismos no modificaron la concentraciones de nutrientes en su plántulas.

León et al. (2012), en Pinar del Rio (Cuba), investigadores semilleros tradicionales pertenecientes a la Empresa Tabacalera de San Juan y Martínez, con el objetivo de demostrar la factibilidad de la aplicación de biofertilizantes en la producción de plántulas de tabaco. La aplicación de *Azotobacter chroococcum* mejoró la longitud y el diámetro del tallo, así como la biomasa seca y fresca total, el ciclo del semillero se redujo en siete días.

Serret et al. (2016), en Texcoco (México), ante la marchitez causada por el oomiceto *Phytophthora capsici* en fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) variedad Festival, se evaluó mediante preinoculación con el hongo *Rhizophagus intraradices* e inoculación con un consorcio de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPRs) conformado por *Pseudomonas tolaasi*, *Bacillus pumilus* y *Paenibacillus* sp. En una prueba de antagonismo in vitro, las especies *Bacillus pumillus* y *Pseudomonas tolaasi*



lograron inhibir al oomiceto en el 54 % y *Paenibacillus* sp en el 43 %, determinaron también que la severidad de la enfermedad en plantas inoculadas con bacterias biocontroladoras fue 23 % menor que el control, así como también lograron valores de área foliar de 239.95 cm², biomasa seca de 6.24 g, volumen radical en 2.1 ml y un número de estolones de 5.

Ortiz et al. (2016), en Texcoco (México), determinaron el crecimiento de cinco variedades de fresa en dos suelos con pH contrastante (4.4 y 8.8), durante 125 días del trasplante, donde las plantas de todas las variedades cultivadas en pH 4.4 superaron a las cultivadas en pH 8.8 en todas las variables, las variedades CP-06-15 y Festival, se adaptaron mejor al pH alcalino, la inoculación bacteriana no tuvo efecto en el crecimiento de la parte aérea y la raíz de las plantas, excepto en la variedad más sensible al pH alcalino (CP-LE-07) inoculada por inmersión de la raíz.

Ancco (2016), en Tacna (Perú), determinaron el efecto individual y en combinación *Azospirillum* sp – *Azotobacter* sp, donde las plántulas de cebolla *Allium cepa* L. var. amarilla, lograron similares características biométricas respecto al calibre del bulbo y el tamaño de sus hojas en contraste con las plantas testigo.

Mautino (2017), en Ancash (Perú), al evaluar la respuesta de la mezcla de guano de isla y microorganismos eficaces (EM) sobre el rendimiento del cultivo de fresa *Fragaria vesca*, entre los resultados obtuvo que el tratamiento T3 (8 Tn/ha de guano de isla + 2 L de EM activos /ha), arrojó el mayor rendimiento con 27333 Kg/ha, confirmando que la aplicación del guano de isla y EM activos es muy favorable para la agricultura, siendo la dosis óptima de 8 Tn/ha de guano de isla + 2 L de EM activos /ha.



Mamani (2017), en Arequipa (Perú), determinó el efecto de un formulado biológico, que contenía cepas bacterianas de *Azotobacter salinestris*, *Bacillus amyloliquefaciens* y el hongo formador de micorrizas arbusculares *Rhizophagus intraradices* sobre el comportamiento agronómico de *Allium cepa* cv. 'Century', donde el formulado biológico de 4 kg/ha logró las mejores características agronómicas de la cebolla amarilla y un rendimiento general de 66.34 t/ha.

González et al. (2018), en Lima (Perú) evaluaron el efecto del biofertilizante *Azotobacter - Rhizobium* en *Lupinus mutabilis* Sweet (tarwi), luego de la selección, formulación y aplicación de los biofertilizantes bacterianos en semillas y plántulas, el tratamiento fue mejor con *Azotobacter* sp con 70 % de germinación, superior al tratamiento con agua o control negativo con 42 % de germinación. Además, la producción de biomasa fue mayor con el tratamiento Rizo1 (*Rhizobium* sp) superando al tratamiento con nitrato de potasio después de 20 días de experimentación.

Mamani (2018), en Puno (Perú) aisló bacterias del género *Azotobacter* en tres campos de cultivo del distrito de Huancané y evaluó su efecto sobre el porcentaje de la germinación de semillas y la longitud total de plántulas de quinua de la variedad Blanca de Juli en condiciones controladas, obtuvo recuentos de *Azotobacter* sp en suelos fueron de 2733.33 NMP/g en Luriata, 3333.33 NMP/g en Yapupampa y 4660.00 NMP/g en Huancollusco, el mejor porcentaje de germinación se obtuvo con inoculaciones de 1.5×10^8 cel./ml, con el 93.33 % y el mejor crecimiento de plántulas de quinua se obtuvo con una inoculación bacteriana de 3.0×10^8 cel./ml.

Flores (2018), en Valladolid (España), reporta comunidades bacterianas próximas a los endosimbiontes presentes en nódulos de *Pisum sativum*, la mayor diversidad fue 9



géneros y 14 especies, en nódulos de *Phaseolus vulgaris* se aisló a la especie *Phyllobacterium endophyticum*, que al analizar su genoma se localizó genes involucrados con rutas metabólicas que promueven el crecimiento vegetal, siendo potencial su aplicación como biofertilizantes.

Alvarez et al. (2018), en Azuay (Ecuador), evaluaron el efecto de microorganismos benéficos en el desarrollo del cultivo de fresa (*Fragaria* sp), en los medios de cultivo aislaron levaduras, *Bacillus* spp, *Lactobacillus* spp y actinomicetos y comprobaron que, según la procedencia, los microorganismos presentan efectos heterogéneos en el desarrollo de las plantas, incrementando el número de hojas, así como también favorece el desarrollo longitudinal, diametral y de raíces, de las plantas de fresa.

Cerna et al. (2018), en Trujillo (Perú), evaluaron el efecto del sinergismo entre las rizobacterias nativas como *Azotobacter chroococcum* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en el crecimiento de *Lactuca sativa* (lechuga), los tratamientos fueron la inoculación de 5 ml de *Azotobacter chroococcum*, al otro *Bradyrhizobium yuanmingense* y al último una mezcla de 2.5 ml de *Azotobacter chroococcum* y 2.5 ml de *Bradyrhizobium yuanmingense* y un control sin bacterias, con cuatro repeticiones y 40 días de tiempo, se evaluó el número de hojas, la longitud del tallo y la raíz, el peso seco de la parte aérea y de la raíz, peso seco total de la planta e IEI y se obtuvo un incremento significativo en cada una de las variables procesadas en condiciones de laboratorio, por lo que la sinergia entre las bacterias nativas utilizadas beneficia el crecimiento de *Lactuca sativa*.

Sánchez et al. (2019), en Sucre (Colombia), investigaron la incorporación de cepas bacterianas de *Azotobacter chroococcum* IBCR19 y *Azospirillum lipoferum* IBSC7 en la fertilización nitrogenada y evaluaron su efecto en el rendimiento y composición



bromatológica de las raíces tuberosas de batata (*Ipomoea batatas* Lam.), donde la aplicación de *Azotobacter chroococcum* IBCR19 y un 75 % de fertilización nitrogenada alcanzó los mayores valores medios de rendimiento (12.18 t/ha) y materia seca radicular (2.92 t/ha), por tanto *Azotobacter chroococcum* IBCR19 logró reducir en un 25 % los niveles de fertilización nitrogenada y constituye una cepa promisoriosa como bioestimulante.

Huete et al. (2019), en Pinar del Río (Cuba), evaluaron la respuesta del maíz (*Zea mays*) a la inoculación con *Azotobacter chroococcum* empleando diferentes dosis y aplicando el 50 % del fertilizante nitrogenado, así como una combinación de *Azotobacter chroococcum* y vermicompost, logrando respuestas positivas del cultivo del maíz a la inoculación con *Azotobacter chroococcum* y de *Azotobacter chroococcum* con vermicompost. Con la aplicación *Azotobacter chroococcum* y vermicompost en dosificación de 15 l/ha y 2 t/ha correlativamente, se logró la germinación de semillas en el 98.4 %, alturas de plantas de 1.14 m, pesos frescos aéreos de 40.7 g, pesos frescos de raíces de 20.4 g, pesos secos de raíces de 5.1 g y pesos secos aéreos de 10.1 g.

Alcarraz et al. (2020) en Lima (Perú), realizaron ensayos de inoculación de *Azotobacter* y *Rhizobium* en semillas de frijol caupi (*Vigna unguiculata*), siendo *Azotobacter* sp el que originó un 80 % de germinación de semillas frente al control con 66 %, *Rhizobium* de manera individual originó una biomasa seca mayor luego de 18 días de tratamiento. Mayor peso seco de las raíces se obtuvo al combinar *Rhizobium* y *Azotobacter* y la mayor biomasa fresca se obtuvo con *Rhizobium* y nitrógeno (KNO₃ 0.1 %).



Ibarra y Llica (2020), en Tacna (Perú), identificaron, caracterizaron y aplicaron cepas de *Azotobacter* nativos en *Raphanus sativus*, al seleccionar 8 cepas, las cepas M19 y la cepa M12 presentaron los mejores porcentajes de ponderación respecto a los cuatro indicadores evaluados. Los tratamientos 1 (control), 5 (bioinoculante de 10^8 UFC/ml) y 6 (urea) fueron eficientes en reducir el tiempo de germinación de 7 a 3 días, incrementaron la longitud vegetal 4.9 cm a 13.7 cm e incrementó el peso fresco de 18.9 g a 48.9 g; la longitud promedio de la raíz con los tres tratamientos fueron similares, variando de 12.3 cm y 15.8 cm, concluyendo que *Azotobacter* tuvo una eficiencia significativa y positiva de su aplicación en *Raphanus sativus*.

Pincay (2020) en Quevedo (Ecuador), evaluaron el efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la asociación del pasto *Andropogon gayanus* con *Clitoria ternatea* y *Pueraria phaseoloides*. Obteniendo como resultado que el pasto *Andropogon gayanus* encontraron la mayor longitud y biomasa de raíz con la aplicación del inoculante *Azotobacter beijerinckii*. En *Clitoria ternatea* a los 45 días después de la siembra recaer el mayor porcentaje de proteína en relación a *Pueraria phaseoloides* que se obtuvo a los 60 días después de la siembra. Lo que fue la población microbiológica de la rizosfera se evidenció que con el inoculante *Azotobacter vinelandii* se obtuvo la mayor población de bacterias y hongos.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Bacterias diazotróficas

Son microorganismos que fijan el nitrógeno atmosférico y es el abastecimiento principal para las plantas, con dichas moléculas sintetizan amonio. A parte de las bacterias, cumplen el mismo rol las algas verde azules y los



actinomicetos. *Azotobacter*, *Bayerlin*, *Azospirillum*, *Azomonas*, *Dexia* y *Oscillatoria*, sintetizan amoníaco de manera aeróbica, siendo mayor cuando el suelo presente suficiente humedad y fuentes de carbono como la materia vegetal en descomposición (paja y las ramas poscosecha). Las secreciones liberadas por la región radicular de las plantas, deberán de ser los indispensables para el desarrollo de bacterias (Coyne, 2000). Las bacterias PGPR, siglas que proceden del inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria o rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, son las que colonizan las raíces y las más importantes estimulantes del crecimiento vegetal, fijan nitrógeno y poseen vida libre. Estas bacterias vienen siendo estudiadas en microbiología de los suelos para desarrollar productos microbianos de importancia comercial.

El análisis del ARN ribosómico 16S otorga información para lograr la identificación molecular de las bacterias fijadoras de nitrógeno y permite el establecimiento de relaciones filogenéticas entre individuos en el mismo ecosistema agrícola (Farajzadeh et al., 2009). Los microorganismos más investigados están representados por los géneros *Azotobacter*, *Stenotrophomonas*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Beyerstein*, *Bacillus*, entre otros; y son denominados como bacterias PGPR, debido a que convierten el nitrógeno atmosférico en amoníaco mediante la fijación biológica de nitrógeno y así incorporarlo a la biosfera, representando beneficios económicos, reduciendo el impacto negativo sobre el medio ambiente a causa del uso exagerado de agroquímicos en la producción agraria (Bruinsma, 2003).



2.2.2 *Azotobacter* sp

Clasificación taxonómica del género *Azotobacter*:

Dominio: Bacteria.

Phylum: Proteobacteria.

Clase: Gamma proteobacteria.

Orden: Pseudomonadales.

Familia: Azotobacteraceae.

Género: *Azotobacter*.

Especies: *Azotobacter vinelandii*.

Azotobacter chroococcum (Ramos, 1992).

Las bacterias del género *Azotobacter* forman un grupo especial de fijadores de nitrógeno, que otorgan la regulación del crecimiento de las plantas, produciendo hormonas vegetales y favorecen la solubilidad de la materia orgánica agregada al suelo como abono (Ramos, 1992). Presentan movimiento y forman quistes en condiciones adversas, pueden llegar a fijar 40 kg de N/ha que equivale a 200 kg de sulfato de amonio. Estos microorganismos fueron ubicados en suelos ácidos con valores de pH 5.5 y en ambientes alcalinos, pero siendo de su preferencia los suelos neutros (Coyne, 2000), por lo tanto, su actividad biológica en el suelo logra cultivos de rendimientos incrementados, mejorando la producción y el control ambiental, admitiendo el mantenimiento de la diversidad biológica y la sostenibilidad de los ecosistemas (Carvajal y Mera, 2010), las bacterias simbióticas o de vida libre que habitan la rizosfera estimulan el crecimiento vegetal mediante la síntesis de reguladores del crecimiento de las



plantas, la fijación de nitrógeno, la solubilización de nutrientes, los síntesis de sideróforos y el control de patógenos de plantas del suelo (Torriente, 2010).

Azotobacter chroococcum son bacterias comunes que utiliza los exudados de las raíces y otorgan nitrógeno compuesto a las plantas que liberan luego de fijar nitrógeno atmosférico (Monib et al., 1979), estos exudados producidos por las raíces poseen azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, vitaminas y ácidos grasos (Prashar et al., 2014). originando un ambiente dinámico llamado rizosfera, donde las bacterias se desarrollan de forma activa y en equilibrio (Pedraza et al., 2010). En tal sentido, las bacterias del género *Azotobacter* no solo son bioestimulantes, sino gracias a su actividad nitrificadora y producción de excreciones proteicas y enzimáticas, producen modificaciones en la fisiología y su metabolismo de los vegetales (Mezei et al., 1997). Como también biosintetizan fitohormonas como auxinas, giberelinas y citoquininas.

Azotobacter vinelandii es una bacteria poliploide es decir que posee varias copias de su cromosoma es de tamaño muy grande de 2 a 5 μm de diámetro es decir 5 a 10 veces más el volumen de *Escherichia coli* se ha asociado el tamaño con la poliploida (Nagpal et al., 1989). La capacidad metabólica y genética por las que *Azotobacter vinelandii* ha sido y es objeto de estudio en biofertilización y biotecnología incluyen la fijación de nitrógeno en presencia de oxígeno por tres sistemas diferentes de nitrogenasa, presencia de mecanismos de protección de la nitrogenasa; alta capacidad respiratoria que en condiciones diazotróficas o de fijación de nitrógeno es hasta 10 veces más alta que *Escherichia coli*, la formación de estructuras de resistencia frente al estrés ambiental (quistes) y la producción de



polímeros de uso industrial como el alginato y el polihidroxibutirato (Espin, 2002).

Los microorganismos que benefician mejor el crecimiento vegetal incluyen a *Azotobacter vinelandii*, *Burkholderia cepacia* y *Stenotrophomonas maltophilia*, y pueden ser identificados por técnicas convencionales o en base a sus propiedades bioquímicas, como la caracterización de la morfología celular, la tinción de Gram, el análisis de la capacidad de crecimiento en condiciones aeróbicas o anaeróbicas, o análisis de las necesidades de sustancias especiales necesarios para su cultivo, llegando a la identificación de géneros y la caracterización de cada especie, subespecie, serovar o cepas, para ello se requiere de las técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa que es una técnica muy útil para la identificación de las secuencias únicas del ADN (Laura et al., 2013).

2.2.3 Factores que favorecen a los microorganismos en la rizósfera

Los microorganismos edáficos representan la mayor proporción de uso a nivel industrial, gracias a su capacidad de transformación de sustancias y ser productora de compuestos útiles a las plantas. Un suelo contiene un alto número de grupos filogenéticos mayor a 10^9 células bacterianas por g de suelo, que a la más pequeña alteración climática dejan de producir metabolitos y enzimas importantes en el mundo científico (Madigan et al., 2003), normalmente un suelo es habitualmente favorable para la proliferación microbiana, desarrollándose microcolonias en sus partículas, lográndose alcanzar cifras de 10^8 a 10^{10} bacterias por g de suelo (Atlas y Bartha, 2002).



En el aislamiento de *Azotobacter* la temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre los 25 °C – 30 °C y la temperatura mínima se encuentra apenas sobre los 0 °C, no toleran altas temperaturas (Mishustin y Shilnikova, 1969), la temperatura óptima es 30 °C (Dhanasekar et al., 2003), el pH óptimo para su crecimiento se encuentra entre 7.2 y 8.2 (Mishustin y Shilnikova, 1969), obteniéndose el máximo crecimiento a pH 7.5 (Dhanasekar et al., 2003), las bacterias del género *Azotobacter* son aerobias, por tanto, necesitan de oxígeno para poder crecer (Madigan et al., 2003).

Los mecanismos directos ocurren cuando las bacterias sintetizan metabolitos o elementos nutritivos dentro de las plantas (López et al., 2013). Entre los mecanismos directos destacan: la fijación de nitrógeno, la síntesis de fitohormonas, vitaminas y enzimas, la solubilización de fósforo inorgánico y la mineralización de fosfato orgánico, la oxidación de sulfuros, el incremento en la permeabilidad de la raíz, la producción de nitritos, la acumulación de nitratos, la disminución de la toxicidad por metales pesados y de la actividad de la enzima ACC desaminasa, la secreción de sideróforos, la reducción de los niveles de etileno en los suelos, y el incremento de la permeabilidad de las raíces (Moreno et al., 2018).

2.2.4 Inoculación de bacterias biofertilizantes en plantas

Existen varias técnicas de inoculación de bacterias en semillas, entre ellas se reportan la técnica denominada al vacío como lo describe Carrillo et al. (1998), que consiste en el uso de una bomba al vacío, donde grupos individuales de 50 semillas de cada variedad, al cabo de 24 horas después de la desinfección, se



colocan en un matraz de 500 ml, posteriormente se añaden 100 ml de medios enriquecidos con bacterias con una concentración de 10^7 UFC m/l, luego los matraces con semilla y medio bacteriano se someten a la acción del vacío (600 mm Hg) por un lapso de 5 minutos, donde cada uno de los grupos de semillas (50) con su respectivo tratamiento (variedad – bacteria), se depositan en cajas Petri previamente esterilizadas que presentan una esponja de sostén.

Díaz et al. (2001), reporta la siguiente técnica de inoculación en cajas Petri estériles, donde se coloca una capa de algodón, recubierta con papel filtro estéril y se humedece con 5 ml de agua destilada estéril, en cada caja se colocan 10 semillas de lechuga, previamente desinfectadas con alcohol a 70 %, se inocula con 0.1 ml de la suspensión bacteriana por semilla, las cajas se sellan con Parafilm y se dejan a temperatura ambiente, simultáneamente, se instala un testigo (sin inocular), al cual sólo se le agrega agua destilada estéril, cada tratamiento tiene tres repeticiones.

Rodríguez y Blanco (2001), realizaron un trabajo experimental en condiciones semicontroladas en viveros de café, demostrando que con el uso de *Azotobacter chroococcum* hay una mejor uniformidad en las posturas de este cultivo, así como un mayor vigor de las plántulas, las cuales en el momento de la extracción del vivero hacia el campo presentaban un color uniforme en su sistema radicular, características de posturas sanas, vigorosas y con alto valor ecológico. González et al. (2016), al analizar los resultados de la inoculación de 8 cepas de *Azotobacter* sobre los parámetros de crecimiento y desarrollo de plantas in vitro de piña (*Anana comosus*), vr. Cayena lisa, donde todas las cepas lograron



estimular el crecimiento vegetal obteniendo valores superiores al testigo, permitiendo disminuir el tiempo de adaptación de las plántulas de piña.

El efecto de la inoculación con *Azotobacter* en distintas investigaciones realizadas en Cuba, pueden resumirse con un trabajo realizado en tomate (Martínez y Dibut, 2006) en el cual se obtuvieron los siguientes resultados: En los semilleros se obtuvo un aumento en la población de las plántulas de tomate entre 30 y 40 % más, lo que dio un mayor número de plantas viables por kg de semilla, con la posibilidad de reducir la superficie necesaria para producir la cantidad de plántulas que deben ser trasplantadas posteriormente. Las sustancias activas que proceden de las bacterias aceleran el crecimiento vegetal en los semilleros, logrando un 30 % mayor altura que el control, 20 % superior en el número de hojas, 40 % superior en los diámetros de tallos y un 52 % superior en la masa seca vegetal. Por tanto, la aplicación bacteriana acorta el periodo que siembra en semillero ya que origina un desarrollo más rápido, llegando trasplantarse de 7 a 10 días antes, ahorrando agua, plaguicidas, combustible y mano de obra, reduciendo el ciclo total de todo el proceso fenológico.

2.2.5 Germinación de semillas

2.2.5.1 La semilla

Es un embrión vegetal que posee envueltas exteriores y el endospermo como almacén de nutrientes. Entre las partes de una semilla se tienen al embrión, las cubiertas seminales y un tejido que se constituyen en el almacén nutritivo. El embrión es una pequeña planta que posee un corto eje unido a los cotiledones, el eje embrionario está formado por dos



partes muy unidas como los son el cotiledón o los cotiledones (hipocótilo) que es la zona intermedia entre el tallo y la raíz y el epicotilo. Las envueltas se constituyen las capas que bordean a la semilla, protegen de agresiones ambientales, así como regulan los cambios producidos entre el exterior y el interior de la semilla, como la absorción de agua y la eliminación de las sustancias de desecho. El embrión al desarrollarse, para dar lugar a la nueva planta, tiene que romper y atravesar estas envueltas (Celia de la cuadra, 1993).

2.2.5.2 La germinación de semillas

Son procesos que se llevan a cabo en las semillas desde su crecimiento hasta la formación de la pequeña planta independiente de los nutrientes almacenados. Pero presuponiendo que todas estas condiciones se han reunido, veamos cuáles son las etapas por las que pasa la semilla durante los procesos de la germinación (Celia de la cuadra, 1993).

- **Imbibición:** es el período durante el cual la semilla absorbe (embebe) agua y se hincha, luego traspasa las envueltas, penetra al interior llegando al embrión, lo suficiente para que active e inicie los procesos del desarrollo vegetal.
- **Digestión y transporte de alimentos:** para ello lo indispensable es el nutriente vegetal, por tal motivo libera enzimas digestivas que digieren los nutrientes del endospermo, siendo traspasado hacia el embrión. Gracias a esta alimentación el embrión puede respirar más rápidamente y crecer (Celia de la Cuadra, 1993).



- **Elongación celular:** las células embrionarias son pequeñas antes de la germinación y el primer crecimiento del embrión se debe a que sus células aumentan su tamaño y no a que se multipliquen. Las proteínas, los azúcares y las grasas son digeridos y absorbidos desde el tejido de almacén, para lograr la respiración vegetal y llegar al alargamiento de sus células. La multiplicación celular no comenzará hasta que no haya terminado este proceso de alargamiento celular (Celia de la Cuadra, 1993)
- **Germinación visual:** antes se dijo que durante la imbibición la semilla se hincha, lo que puede apreciarse a simple vista. También se vio que la semilla realiza posteriormente una serie de actividades internas importantes, ninguna de las cuales es directamente apreciable. Pero cuando tiene lugar la elongación celular podemos observar cómo el embrión se va abultando hasta que uno de los extremos del eje embrionario rompe las envueltas seminales y aparece claramente a nuestra vista, dándonos la primera señal palpable de que la semilla está germinando. El extremo del eje embrionario que aparece primero es el lado libre del hipocótilo, al que se llama radícula, que dará lugar a la raíz principal. Muy pronto aparecerá el otro extremo del eje embrionario o epicotilo que formará el primer brote (Celia de la Cuadra, 1993).

2.2.5.3 Condiciones para la germinación

La semilla necesita una serie de condiciones para que pueda germinar. Ahora vamos a ver cuáles son esas condiciones y comenzaremos



por distinguir entre condiciones externas a la semilla, es decir, las que debe reunir el medio ambiente que rodea a la semilla, y condiciones internas de la semilla, es decir, las que debe reunir la propia semilla para poder germinar (Celia de la cuadra, 1993).

- **Condiciones externas:**

Disponibilidad de agua: una semilla tiene que disponer de agua para poder germinar. El agua se constituye en la característica ambiental más limitante que afecta la germinación, por lo que debe estar disponible en cantidades adecuadas, evitando los excesos ya que origina consecuencias negativas.

Temperaturas adecuadas: cada especie vegetal poseen su temperatura óptima donde se inducirá a una germinación mayor y en menor tiempo; por otro lado, a temperaturas máxima y mínimas, las semillas no germinarán o bien serán en bajos niveles.

Presencia o ausencia de luz: al respecto en muchas plantas existe mucha variabilidad, muchas semillas germinan con presencia de luz o en oscuridad.

- **Condiciones intrínsecas**

La semilla debe estar viva y bien constituida: el embrión de una semilla generalmente es capaz de permanecer vivo durante un largo período de tiempo, y a esta capacidad se le llama viabilidad de la semilla. La facultad de germinar, llamada poder germinativo, se puede conservar también



durante un período prolongado. El período durante el cual una semilla conserva su viabilidad y su poder germinativo es variable, dependiendo de la especie y de las condiciones en que se conservan las semillas.

La semilla debe de estar madura: toda semilla está madura cuando es separada de la planta, presentando la aptitud para su germinación. A pesar de ellos se tiene tres casos: cuando la semilla presenta madurez fisiológica y germina sobre la planta. En el segundo caso posee madurez fisiológica y morfológica de manera simultánea y la semilla germina cuando se desprende de la planta y posea condiciones ambientales favorables. En el tercer caso las semillas se desprenden de las plantas, pero antes de desarrollar su capacidad de germinación, por lo que requiere un periodo relativamente largo para lograr germinar.

La semilla debe ser permeable al agua y al oxígeno (Celia de la Cuadra, 1993).



2.2.6 La fresa (*Fragaria* sp)

2.2.6.1 Clasificación taxonómica de la fresa

Superreino: Eukaryota.

Reino: Plantea.

Subreino: Embryobionta.

División: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Rosidae.

Orden: Rosales.

Familia: Rosaceae.

Subfamilia: Rosoideae.

Tribu: Potentilleae.

Subtribu: Potentilleae.

Género: *Fragaria*.

Especie: *Fragaria* sp (Menéndez, 2013).

2.2.6.2 Características botánicas

La fresa es una planta herbácea, en la parte superior posee una roseta de 5 cm de alto casi al nivel del suelo, tiene un tallo cónico y pequeño, poseen estolones laterales con entrenudos y pequeñas hojas y presencia de raicillas superficiales, a partir del cual nacen nuevos estolones. Presentan hojas que terminan en punta, un limbo con tres foliolos y bordes puntiagudos; en su parte superior tiene vellosidades



lanosas de coloración verde oscuro y en la parte posterior de color verde claro. Las flores se ubican en las axilas foliares en inflorescencias de forma ramillete, sobre ella presentan un pedúnculo no tan largo, clasificadas como plantas femeninas, masculinas o hermafroditas, estas últimas son mayormente.

Su altura se encuentra entre 2 y 5 cm de espesor, con un cáliz compuesto por cinco y demás sépalos verdosos y una corola con cinco pétalos en forma de elipse con color blanco, su fruto de todos modos no es un verdadero fruto, compuesto por un receptor con carne amplia, manteniendo sépalos en los cimientos donde se encuentran los insertos de los verdaderos frutos llamados aquenios donde se encuentra el receptáculo comestible y adopta un diseño alargado a forma esférica y se le observa un color rojo apenas haya madurado el fruto, en su periferie se observan los aquenios de color marrón claro y por dentro del receptáculo se observa un color más blanco, por lo que el centro no está muy formado, el sistema radicular contiene muchas fibras y no es tan hondo, conteniendo exactamente en los primeros treinta centímetros tanto de lado y en lo profundo (Ferrucho y Ruíz, 2013).

La fresa es un vegetal recurrente de tamaño achicado, se puede reproducir de forma sexual y asexual, es una planta de clase leñosa, el lapso de su existencia es reducido; su tallo está apretado en una corona, de la que emergen las hojas en muy cortos tiempos, en la parte axilar se incrementan yemas que tienen la oportunidad de sobrepasar como ramas, se reproducen de manera sexual a través de la germinación de



inflorescencias en la mayoría de los casos, pequeños hojas de color blanco y cavidad amarilla, los que culminan creando poliaquenos “eterios” y tienen dentro los reales frutos (aquenos) en su sector, los eterios catalogados fresas son semicirculares, con muy jugo, dulce y de olor interesante, los frutos de la fresa no son muy climáticos, por lo cual no completa su desarrollo de venta cuando se haya recogido (Calderón, 2015).

El fruto de la fresa es muy saludable, ya que contiene antioxidantes y vitaminas, como producto medicinal es consumido para mantener un peso determinado en personas, así como también debe ser consumida en pacientes que no puedan consumir azúcar. Se adaptan a zonas tropicales, razón por la cual en el Perú se cultivan en Arequipa, Ica, La Libertad, Trujillo y Lima. Su producción ha aumentado en estos últimos años y es un alimento de exportación (MINAGRI, 2008)

2.2.7 Parámetros biométricos del crecimiento vegetal

2.2.7.1 Longitud de raíces

El sistema radicular es fasciculado, se compone de raíces y raicillas. En las primeras etapas sus raíces presentan un cambium vascular y suberoso, luego al carecer son de color más claro con un periodo corto de vida (días o semanas), sus raíces son perennes ya que atraviesan un proceso de renovación fisiológica que es influenciado por los patógenos del suelo y los factores ambientales. La profundidad que logran sus raíces es variable el cual dependerá del tipo de suelo, llegando alcanzar



longitudes de 2 – 3 m, siendo lo normal de 40 cm, pero la mayor parte (90 %) llega a los 25 cm.

2.2.7.2 Longitud de tallos

El tallo posee un eje corto y cónico llamado también corona y numerosas escamas foliares.

2.2.7.3 Peso total de la plántula

La luz favorece el incremento del peso de la planta, las longitudes de onda se ubican entre 400 hasta 550 nm, que corresponden a los colores azul y verde, siendo estos ideales para el crecimiento de la fresa, remolacha y brócoli (Casierra y Peña, 2015).

2.2.8 Requerimientos ambientales

2.2.8.1 Fotoperiodo

El fotoperiodo tiene una relación con el termoperíodo, esta última es la reacción vegetal a la variación diaria, anual o periódica de la temperatura, ambos parámetros inducen al comportamiento productivo, a la floración y el área de distribución de las variedades (Bianchi, 1999).

Durner et al. (1984), al estudiar los efectos del fotoperíodo y la temperatura en la floración y formación de estolones de variedades de fresa de día corto, largo y neutros, llegaron a la conclusión que la clasificación de las variedades según las necesidades de fotoperiodo es inadecuada; estos autores encontraron interacciones entre la variedad, el fotoperiodo y la temperatura tanto para la floración como la formación de estolones. A



temperaturas inferiores a los 12 °C en la etapa de cuajado de los frutos puede originar frutos deformes.

2.2.8.2 Temperatura

La fresa es una especie que tolera temperaturas de 2 °C en la etapa del reposo vegetativo y para lograr la interrupción del estado durmiente de las yemas, las plantas deben estar en ambientes con temperaturas inferiores a 6 °C. Las estructuras vegetativas son altamente resistentes a las heladas, pero sus flores se dañan con temperaturas menores a los 0 °C (Bianchi, 1999). Por otro lado, con temperaturas superiores a los 40 °C se induce la producción de frutos de mala calidad (Maroto et al., 1986), además de planchado de los frutos que es un síntoma de deshidratación (Folquer, 1986).

La fresa en su fase vegetativa, la temperatura óptima es de 20 °C en el día y 12 °C en la noche; mientras tanto que, en la fase de floración y la maduración de los frutos debe tener un ambiente entre 25 °C y 26 °C todo el día. Temperaturas menores a 2 °C y superiores a 34 °C provocan desvitalización del polen, aborto floral y malformación de los frutos (Bianchi, 1999). La mayoría de las variedades requieren horas frío para formar y obtener buena producción (Maroto et al., 1986).

2.2.8.3 Solución nutritiva

Baixxauli y Aguilar (2002) indican que una solución nutritiva está conformada por la parte acuosa y los nutrientes esenciales para el crecimiento vegetal como nitrógeno, potasio, fósforo, calcio, azufre y



magnesio, en cantidades relativamente elevadas. Entre los microelementos esenciales debe contener hierro, manganeso, zinc, cobre, molibdeno y boro. Todos ellos deberán estar disociados. Toda esta formulación debe contar con factores físicoquímicos ideales como el pH y la conductividad eléctrica para lograr una buena nutrición vegetal.

2.2.8.4 Potencial de hidrogeno (pH)

El pH ácido o básico de la solución nutritiva influye en la solubilidad iónica, a pH básico, se presentan insolubilidades y precipitados, alterando la nutrición, bloqueando los conductos del sistema de riego, la mayoría de plantas son favorecidas si la solución nutritiva esté en pH de 5 a 7, en hidroponías lo ideal es un pH de 5.5 a 5.8, ya que en ese rango se encuentran mejor disueltos los iones, fundamentalmente el fósforo y los micronutrientes.

En el agua de riego el pH suele ser básico y para bajarlo generalmente hacemos uso de ácidos, como puede ser el ácido fosfórico, sulfúrico o el nítrico, encargados de neutralizar al ión bicarbonato; este actúa de elemento tampón, debiendo mantener en las soluciones nutritivas finales unos 0.5 milimol/litro para evitar caídas bruscas de pH (Baixxauli y Aguilar, 2002).

2.2.9 Caracterización de los suelos

Según el MINAGRI (2008), el cultivo de fresa requiere suelos con pH ligeramente ácido a neutro (6 a 7), una conductividad eléctrica que no supere los 2 mmhos/cm, ya que no desarrolla en suelos salinos, deben tener bajo porcentaje



de carbonatos de calcio (<5 %) y con buen drenaje, su textura debe ser franco arenosa para un buen drenaje para el control de enfermedades fungosas de la raíz y la corona, climas templados con temperaturas de 18 °C a 22 °C en temporada de fructificación y de 23 °C a 28 °C durante el crecimiento vegetativo.

Son escasos los estudios fisicoquímicos en muestras del suelo en las zonas de estudio, por lo que se reportan investigaciones próximas, una de ellas es el reporte de Escalante (2018) realizó un análisis de fertilidad en suelos en la región Puno, de las cuales el centro poblado de Santa Rosa de Yanaque (distrito de Acora), presentó un contenido de arena del 80.20 %, arcilla 11.20 % y limo 8.60 %, la clase textural fue arena franca, el contenido de materia orgánica fue de 1.45 %, nitrógeno total 0.04 %, pH 7.80, conductividad eléctrica 0.16 mS/cm, fósforo 2.51 ppm y potasio 39 ppm; por otro lado, el centro poblado Camicachi (distrito de Ilave) tuvo suelos con un contenido de arena del 68.60 %, arcilla 15.10 % y limo 16.30 %, la clase textural fue franco arenoso, el contenido de materia orgánica fue de 2.15 %, nitrógeno total 0.05 %, pH 6.90, conductividad eléctrica 0.11 mS/cm, fósforo 3.63 ppm y potasio 64 ppm; mientras tanto, el centro poblado de Jayllihuaya (distrito de Puno), los suelos tuvieron las siguientes características un contenido de arena del 79.30 %, arcilla 8.40 % y limo 12.30 %, la clase textural fue arena franca, el contenido de materia orgánica fue de 0.95 %, nitrógeno total 0.06 %, pH 6.30, conductividad eléctrica 0.12 mS/cm, fósforo 3.07 ppm y potasio 38 ppm. De estos suelos el que presentó el mayor recuento de *Azotobacter* sp fue de Camicachi. En investigaciones de cultivo *in vitro* de *Azotobacter* sp, Zavala (2022) reporta que el pH 7, 30 °C, 120 revoluciones por minuto y 1 Vessel



volumen por minuto (volumen operativo) fueron necesarios para lograr la mayor biomasa.

Por otro lado, Andrade et al. (2020) determinaron la calidad de suelos agrícolas de la bahía interior de Puno (Chulluni a Chimú), cuyos resultados promedios fueron fósforo 36.8 mg/kg, nitrato 0.552 %, potasio 117.76 mg/kg, materia orgánica 3.80 % y gran número y variedad de especies de los individuos macroinvertebrados, con dichos resultados afirman que los suelos poseen una moderada calidad y fertilidad, debiendo controlarse los valores altos de nitratos para lograr exitosas siembras.

En los últimos años se viene presentando el incremento de la degradación de suelos y es una amenaza a los suelos destinados a labores agrícolas (Bednář y Šarapatka, 2018), en otros factores se tiene al cambio climático, la excesiva aplicación de plaguicidas que conllevaría a la acumulación en la materia orgánica y en agua (Leal et al., 2014). El Comité para la salud del suelo que pertenece a la Soil Science Society of America considera que la calidad de suelos consiste en la capacidad que tienen los campos de cultivo de presentar parámetros apropiados para un ecosistema manejado por el hombre o natural, por lo tanto, se busca mejorar la calidad del suelo, aire y agua, para lograr la sostenible producción de flora y fauna logrando el equilibrio ecológico (García et al., 2012).

Los macroinvertebrados presentes en los suelos desempeñan funciones importantes, relacionados con los nutrientes, como el carbono del suelo (Nabiollahi et al., 2018), sus actividades originan efectos directos en las propiedades del suelo, como la humificación y mineralización de la materia



orgánica (Gutiérrez et al., 2003), todo ello en colaboración con bacterias del género *Rhizobium*, quienes originan poros y agregados de diferentes tamaños (Lavelle et al., 2006), que repercute en la fertilidad del suelo y el contenido de materia orgánica y la diversidad de microorganismos y organismos también influye en la calidad y estado del suelo (Andrade et al., 2020).

CAPÍTULO III

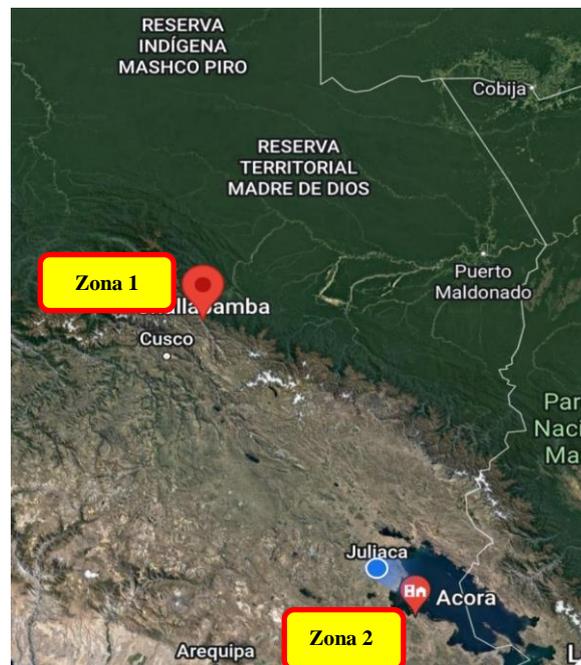
MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ZONA DE ESTUDIO

La zona de estudio estuvo conformada por los campos de cultivo de los distritos de Challabamba (región Cusco) y Acora (región Puno), donde sus habitantes se dedican a la agricultura produciendo diversos tubérculos y frutales entre otros, las muestras de suelo del cual se aislaron a *Azotobacter* sp fueron inoculadas en las semillas y plántulas de fresa, en el laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno.

Figura 1

Zonas de muestreo en los centros poblados de Mecllaypata – Challabamba, Cusco (Zona 1) y Villa Socca – Acora, Puno (Zona 2).



Fuente: Google maps.



Las muestras de suelo del cual se aislaron a *Azotobacter* sp procedieron de dos campos de cultivo ubicados sobre los 2830 msnm del centro poblado de Mecllaypata del distrito de Challabamba (coordenadas 13°12'40.6" latitud Sur 71°38'53.3" longitud Oeste), provincia de Paucartambo, región Cusco, y sobre los 3867 msnm del centro poblado de Villa Socca en el distrito de Acora (coordenadas 15°58'04.8" latitud Sur 69°47'17.1" longitud Oeste), provincia y región Puno. Challabamba se caracteriza por ser un valle y poseer campos de cultivo con producción de pera, manzana, ciruela, capulí, yacón, durazno, papa, zanahoria, entre otros cultivos. Acora se caracteriza por producir papa, ajos, oca, habas, manzana entre otros cultivos y en los últimos años inició con la producción de fresa. Los análisis bacterianos y las inoculaciones en las semillas y plántulas de fresa se efectuaron en Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA – Puno.

3.2 DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

El diseño fue experimental, en razón de que se describió y analizó el crecimiento de las raíces, tallos y aumento del peso de las plántulas. La investigación planteada fue de tipo experimental, debido a que se evaluó el efecto de la inoculación de *Azotobacter* sp en semillas y plántulas de fresa las que se compararon con tratamientos no inoculados (control), fue de tipo explicativo, en razón de que se interpretó los factores que influyeron en el proceso de la medición de las raíces, tallo, peso de las plántulas y fue de corte transversal debido a que se evaluaron el desarrollo de la germinación de la semilla en condiciones del laboratorio durante los meses de septiembre del año 2021.



3.3 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE *Azotobacter* sp EN EL PROCESO DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE FRESA (*Fragaria* sp)

3.3.1 Toma de muestra

Las muestras fueron colectadas de diferentes regiones del Perú como son Acora – Puno y Challabamba – Cusco, se realizó durante la mañana en frascos de vidrio de boca ancha previamente esterilizadas, se recolecto de los invernaderos 3 muestras de suelo de cultivos de fresa por distrito (Zonas) cada frasco un promedio de 800 g de suelo, finalmente fueron rotuladas y transportadas en caja de cartón al laboratorio. La parte experimental se realizó en el laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno.

En las muestras se aislaron *Azotobacter* sp que fueron evaluadas en el efecto de la germinación de semillas de fresa y la inoculación en las plántulas de fresa que se muestrearon durante 60 días (dos meses) de crecimiento en un invernadero acondicionado.

3.3.2 Aislamiento de *Azotobacter* sp a partir de muestras de suelo de los distritos de Challabamba y Acora

- Preparación de medios de cultivo para el aislamiento de *Azotobacter* sp

El medio de cultivo que se utilizó para el aislamiento de *Azotobacter* sp fue el medio para bacterias fijadoras de N (BFNT), el cual estuvo compuesto por una solución A (0.9 g K_2HPO_4 , 0.2 g KH_2PO_4 , 0.1 g KCl, 0.025 $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, 4.9 g $Na_2FeEDTA$, 15 g agar y 1 litro agua destilada) y una solución B (0.2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.06 g $CaCl_2 \cdot H_2O$, 100 ml agua destilada) (García, 2019). La presencia de *Azotobacter* sp en los medios de cultivo fueron identificadas en el



medio de cultivo Ashby preparado con 5 g 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 $CaCO_3$, 20 g de agar, 1 litro de agua destilada, pH 7.0 (Rao et al., 1998) como también el azul de bromotimol (indicador de pH).

- **Cultivo de muestras de suelos de Acora y Challabamba**

En 2 tubos de ensayo se agregó 8.0 ml de agua destilada y se cubrió con papel aluminio para luego ser esterilizados por 15 minutos en 121 °C conjuntamente con las placas, posteriormente se pesaron las muestras 2.0 g de suelos de Acora y 2 g de suelos de Challabamba que se agregó a los tubos de ensayo y luego fueron agitados en el vortex para lograr una buena dilución.

Finalmente se sembró la dilución de muestras de suelo con micropipeta de 500 μ l en cada placa con medio de cultivo y se esparció con el asa de Digrafsky, se sellaron las placas con plástico adherente que luego fueron llevadas a la incubadora a temperatura de 28 °C por 6 días aproximadamente.

- **Pruebas para la identificación bacteriana**

La identificación de *Azotobacter* sp, se realizó mediante la tinción Gram para determinar morfologías celulares y entre las pruebas bioquímicas se realizaron la catalasa, oxidasa, test de nitritos, fermentación de sacarosa y manitol.

- **Identificación del crecimiento bacteriano**

La presencia de *Azotobacter* sp. se evidenciaba por el crecimiento de colonias mucosas de coloración amarillenta, cremosas y brillantes alrededor de algunas partículas de suelo sembradas en medio mineral sin nitrógeno



provenientes de muestras de Acora en tanto en muestras de Challabamba el crecimiento fue escaso con colonias pequeñas mucosas traslucidas de coloración cremosa y brillantes los signos que evidenciaron fue el desarrollo bacteriano en la cual hubo cambio de color verde a amarillento. Se seleccionaron las colonias de color amarillo, en diferentes tonalidades, secas o mucosas y de diferentes formas y tamaños desarrolladas en el medio MMSN. Al observar estas colonias en el microscopio, se apreciaron células relativamente grandes y al igual que bacilos gran negativos con las formas típicas de *Azotobacter*. Además, en los primeros subcultivos en el medio mineral sin nitrógeno fue común observar además el crecimiento de pequeñas colonias mucosas, translúcidas y brillantes.

En tanto las pruebas bioquímicas fueron positivos la catalasa (+), oxidasa (+), test de nitritos (++) , fermentación de sacarosa y manitol dieron como positivo al cambiar de color verde azulado a la coloración amarillenta del medio de cultivo este se acidifica por el consumo de azúcares. Al igual que los demás fijadores de nitrógeno *Azotobacter* sp. Es quimioheterótrofo, utiliza como fuente de carbono y energía una gran variedad de ácidos orgánicos, azúcares o sus derivados alcohólicos como el manitol que es sustrato más empleado para aislarlos y cultivarlos, dentro de las sustancias que utilizan como fuente de carbono y energía se encuentra la fructuosa, glucosa, sucrosa, acetato, fumarato, piruvato, succinato, acetilmetilcarbinol y α -oxoglutarato (Holt, 2000).

- **Inoculación de *Azotobacter* sp en semillas de fresa**

Método. Germinación *in vitro*.



Fundamento. La germinación se basa en la transformación de un embrión en estado quiescente en una plántula, posee los eventos de imbibición, activación, división y elongación celular, ruptura de la cubierta seminal por el embrión y el establecimiento de la plántula como ente autónomo, donde la velocidad e índice de germinación, son indicadoras de la estimulación del proceso fisiológico y la vigorosidad de la semilla (Huete et al., 2019).

Procedimientos.

- Se formularon 3 tratamientos (Azot.-Acora 0.5 McF, Azot.-Acora 1 McF y Azot.-Challab 0.5 McF) con tres repeticiones cada una y el control.
- En cada una de las placas Petri, se colocaron secciones circulares de gasa estéril, las cuales fueron humedecidas con agua destilada estéril.
- Se prepararon soluciones bacterianas de concentraciones 1.5×10^8 cél/ml y 3×10^8 cél/ml equivalente a los estándares 0.5 y 1 McFarland, para ello con una asa de siembra estéril se colectaron porciones de colonias en agua destilada estéril, hasta que el tubo contenga una turbiedad semejante a cada uno de los estándares McFarland (Mamani, 2018).
- Para las bacterias procedentes del distrito de Acora se prepararon dos concentraciones bacterianas (1.5×10^8 cél/ml y 3×10^8 cél/ml) y para las procedentes de Challabamba solo una concentración (1.5×10^8 cél/ml), ante el escaso crecimiento de colonias en el medio de cultivo mineral sin nitrógeno.



- A continuación, se colocaron 50 semillas de fresa en cada placa Petri, previamente desinfectadas en alcohol al 70%, luego con legía al 5% y enjuagadas hasta por cinco veces con agua destilada estéril, seguidamente fueron embebidas por 15 minutos en soluciones de agua destilada conteniendo *Azotobacter* sp en las concentraciones descritas en el párrafo anterior.
- Asimismo, para el tratamiento control en cada placa Petri se dispuso de igual número de semillas tal como se indicó en el párrafo anterior, pero embebidas y sumergidas en agua estéril sin inoculación bacteriana. Finalmente se cubrió cada placa con papel aluminio y papel kraf para ser transferido a la incubadora a una temperatura de 26 °C.
- El control de la germinación se realizó cada 3 días para humedecerlas con el inoculante de *Azotobacter* sp.

3.3.3 Cálculo del porcentaje de germinación (%G) de las semillas de fresa.

Se calculó mediante la siguiente ecuación de acuerdo a lo recomendado por González y Orozco (1996):

$$\% G = \frac{\text{Semillas germinadas}}{\text{Número total de semillas en prueba}} \times 100$$

3.3.4 Variables analizadas

- **Variable independiente:** *Azotobacter* sp aislada de suelos de los distritos de Challabamba (Cusco) y Acora (Puno).
- **Variable dependiente:** Porcentajes de germinación de semillas de fresa.



3.3.5 Análisis estadístico de datos

Los resultados obtenidos de los valores de porcentajes de germinación de semillas de fresa con respecto al control fueron tabulados y previamente analizados mediante promedios, desviación estándar 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 Infostat versión libre.

3.4 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE *Azotobacter* sp EN PLÁNTULAS DE FRESA (*Fragaria* sp)

Las plántulas de fresa fueron adquiridas en el mercado Unión Dignidad de la ciudad de Puno, se compraron 20 plántulas a comerciantes de flores ornamentales y plantas cultivadas, ellas tuvieron una longitud entre 8 y 12 cm.

Se desinfectaron las plántulas de fresa con agua luego fueron medidas sus tallos con vernier, las raíces se cortaron uniformizándose a 8.0 cm en tamaño para luego ser agrupados en 3 tratamientos con 5 repeticiones y sus respectivos controles.

3.4.1 Inoculación de *Azotobacter* sp en plántulas de fresa

Para la inoculación se obtuvo a partir de las placas de medio mineral sin nitrógeno, donde se presentó el crecimiento bacteriano de *Azotobacter* sp, estos fueron subcultivadas en medio mineral sin nitrógeno a 28 °C por 4 a 5 días. Con la biomasa desarrollada se obtuvo suspensiones de varias colonias, la cual se extrajo con un hisopo estéril hasta la botella con agua destilada cuya concentración se estandarizó a 1.5×10^8 células/ml y 3×10^8 células/ml, que fueron contrastados



con la turbidez de las escalas de McFarland 0.5 y 1, respectivamente, para inoculante bacterianos de Acora; en cambio para el inoculante de Challabamba fue a una concentración equivalente de 0.5 McFarland, todo el procedimiento se realizó en presencia de mecheros de alcohol para mantener libre de contaminación los inoculantes. Finalmente fueron rotulados y listos para su aspersión e inoculación a las plántulas.

3.4.2 Inoculación de las raíces de fresa

La inoculación con *Azotobacter* sp de las plántulas de fresa se realizó sumergiendo sus raíces anteriormente desinfectadas con agua estéril e hipoclorito de sodio al 5 %. En una solución salina esterilizada que presentó un número de células equivalentes al estándar 0.5 McFarland, se realizó la sumersión de sus raíces de las plántulas, por un tiempo de 30 minutos, de la misma forma se prepararon concentraciones 0.5 y 1 McFarland para bacterias de Acora, y solo la concentración 0.5 McFarland para muestras de Challabamba, debido a la escasez de crecimiento bacteriano. La inoculación del tratamiento control se realizó empleando como inoculo solución de agua destilada (100 %) y sacarosa al 10 % sin *Azotobacter* sp. El invernadero fue acondicionado para las plántulas que fueron traspasadas a baldes de plástico, conteniendo arena fina previamente desinfectada con hipoclorito de sodio al 5 % y agua.

Las raíces fueron cubiertas con algodón previamente esterilizado y humedecida en forma interdiaria con solución hidropónica de macro y micronutrientes de la Universidad Nacional Agraria La Molina, el cual fue adquirido de la Red de Hidroponía de la Universidad Agraria La Molina de Lima.



La inoculación de la solución de *Azotobacter* sp a las raíces de las plántulas fueron interdiarias inyectándoles con una jeringa 5 ml por día y los nutrientes (micronutrientes y macronutrientes) se aplicaron 5 ml y por aspersión 2 veces al día, estuvieron en observación durante 60 días.

3.4.3 Cálculo del índice de efectividad de inoculación (IEI)

Transcurridos 60 días después del trasplante de plántulas a los frascos con algodón estéril, se extrajeron al azar para determinar los siguientes parámetros biométricos: longitud de las raíces, longitud total de la planta y el peso total de las plántulas. Para calcular el IEI (Escobar et al., 2011) se aplicó la siguiente ecuación:

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

3.4.4 Variables analizadas

- **Variable independiente:** *Azotobacter* sp aislada de suelos de los distritos de Challabamba (Cusco) y Acora (Puno).
- **Variable dependiente:** longitud de las raíces, longitud total de la planta y el peso total de plántula de fresa.

3.4.5 Análisis estadístico de datos

Los resultados obtenidos de los parámetros biométricos de las plántulas inoculadas con *Azotobacter* sp (longitud de las raíces, longitud total de la planta y el peso total de las plántulas) con respecto al control, fueron tabulados y previamente analizados mediante promedios, desviación estándar 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 Infostat versión libre acceso.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EFECTO DE *Azotobacter* sp EN EL PROCESO DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE FRESA (*Fragaria* sp)

Tabla 1

*Porcentajes de germinación de semillas de fresa (*Fragaria* sp) inoculadas con *Azotobacter* sp procedente de dos regiones del Perú.*

| Tratamientos | Germinación de semillas (%) | | | Prom | CV (%) |
|-----------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|--------|
| | Rep 1 | Rep 2 | Rep 3 | | |
| Azot.-Acora 0.5 McF | 36 | 44 | 30 | 36.67 | 19.16 |
| Azot.-Acora 1 McF | 52 | 56 | 60 | 56.00 | 7.14 |
| Azot.-Challab 0.5 McF | 44 | 36 | 44 | 41.33 | 11.17 |
| Control | 20 | 18 | 22 | 20.00 | 10.00 |

Donde: Rep = repetición; Prom = promedio; CV = coeficiente de variación; Azot. = *Azotobacter*; McF = McFarland; Challab = Challabamba.

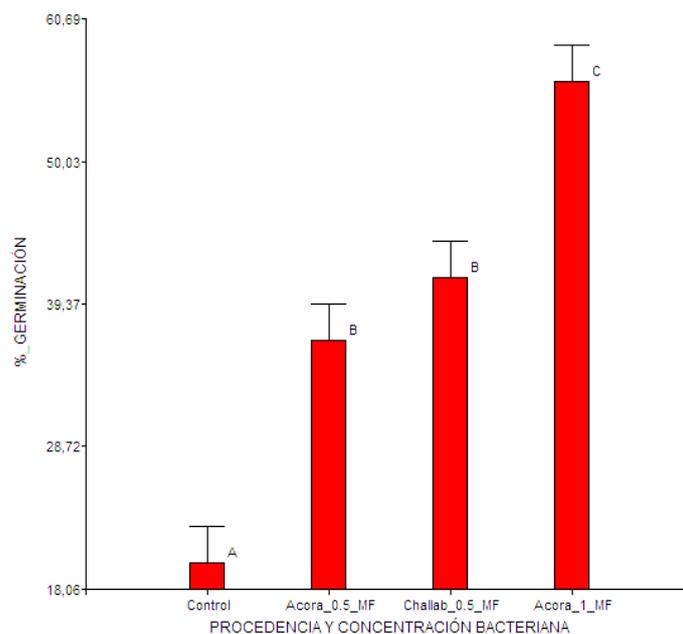
Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 1 se observa que los porcentajes de germinación de semillas de fresa tuvieron promedios de 36.67 % y 56.00 %, luego de inocular *Azotobacter* sp aisladas del distrito de Acora a concentraciones de los estándares 0.5 y 1 McFarland, respectivamente, superando al tratamiento control con una germinación promedio del 20 %. Con bacterias aisladas de Challabamba (0.5 McFarland) se obtuvo un promedio de 41.33 % de germinación de semillas de fresa. Los coeficientes de variación oscilaron entre 7.14 % y 19.16 %, indicando que los resultados obtenidos de los porcentajes de germinación de cada uno de los tratamientos, presentaron una dispersión baja con respecto a su promedio.

La prueba de análisis de varianza tuvo como resultado una F calculada (Fc) de 29.11 y un P – valor de 0.0001 (Tabla 6), al resultar el P – valor menor a 0.05, se afirma que existió diferencia estadística significativa; a continuación, la prueba de Tukey resultó que el tratamiento Azot.-Acora 1 McF, es el que mejor influyó en obtener los mayores porcentajes de germinación de semillas de fresa, seguido de los tratamientos Azot.-Acora 0.5 McF y Azot.-Challab 0.5 McF, sin presentar diferencia estadística entre ambos. Todos los tratamientos bacterianos fueron superiores al tratamiento control en los porcentajes de germinación de semillas de fresa (Figura 2).

Figura 2

Prueba de Tukey de los porcentajes de germinación en semillas de fresa (Fragaria sp.) inoculadas con Azotobacter sp.



Fuente: Elaboración propia.

En la presente investigación, el mayor porcentaje promedio de germinación de semillas de fresa fue de 56 %, estos resultados fueron inferiores a los obtenidos por González et al. (2018) quienes en Lima (Perú) al inocular *Azotobacter sp* en *Lupinus*



mutabilis Sweet (tarwi) obtuvieron una germinación del 70 %; asimismo, fueron inferiores a los reportados por Huete et al. (2019) quienes en Pinar del Río (Cuba) al evaluar la respuesta del maíz (*Zea mays*) a la inoculación con *Azotobacter chroococcum* combinado con vermicompost lograron la germinación de semillas en 98.4 %. También Alcarraz et al. (2020) en Lima (Perú) aislaron cepas de *Azotobacter* que luego de inocular al frijol caupi (*Vigna unguiculata*), obtuvieron un 80 % de germinación. Estas diferencias se deberían probablemente a que las bacterias aisladas en la investigación, carecen en su genoma de genes involucrados en rutas metabólicas que promuevan el crecimiento vegetal (Flores, 2018), como la conversión de nitrógeno atmosférico en amoníaco mediante la fijación biológica de nitrógeno (Bruinsma, 2003) y a través de los mecanismos de protección de enzima nitrogenasa, responsable de dicho proceso de fijación (Espin, 2002).

En el presente estudio se obtuvo los mayores promedios de germinación de semillas de fresa, inoculando concentraciones de 3×10^8 cél/ml de *Azotobacter* sp (estándar 1 McFarland), estos valores superan a los reportados por Mamani (2018) quien en Puno (Perú) aisló *Azotobacter* sp en tres campos de cultivo del distrito de Huancané, luego de inocularlos en semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad Blanca de Juli en condiciones controladas, logró los mejores porcentajes de germinación al inocular concentraciones bacterianas de 1.5×10^8 cél/ml (estándar 0.5 McFarland). Esta diferencia, tiene como causa probable que las bacterias inoculadas en la presente investigación, carezcan o más bien produzcan muy pocas cantidades de hormonas vegetales auxinas, que son estimulantes de la germinación, razón por la cual se requiere de mayores concentraciones de *Azotobacter* sp.



Los aislamientos de *Azotobacter* sp obtenidos de las dos regiones en evaluación, incrementaron los porcentajes de germinación en semillas de fresa superando al tratamiento control, por lo tanto, se constituye en una alternativa biotecnológica de provecho ecológico y medio ambiental, ya que producen metabolitos benéficos para la germinación como fitohormonas ácido indolacético y giberelinas, poseen la capacidad de ser antagonistas de hongos patógenos y fijan el nitrógeno atmosférico (Gothandapani et al., 2017).

La germinación es la primera etapa de desarrollo vegetal, en semillas de fresa la aplicación de *Azotobacter* sp incrementó la germinación, debido a que sintetiza y libera sustancias reguladoras del crecimiento vegetal como las auxinas, las citoquininas o las giberelinas (Kloepper et al., 1991), mejorando la producción de la biomasa vegetal, la absorción de nutrientes, el rendimiento (Babu et al., 2015), incrementar el crecimiento de brotes y raíces, la regulación hormonal, la solubilización de minerales, la fijación de nitrógeno y la supresión de patógenos, por lo que está incluida dentro de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (González et al., 2018).

La aplicación de biofertilizantes entre ellas *Azotobacter* sp, aislada en el presente estudio son inocuos a la salud pública, pero genera el aporte de nutrientes para el desarrollo vegetal, mejorando el crecimiento y la productividad de los cultivos. Según Crossman y Hill (1987), en la agricultura se viene incrementando la aplicación de biofertilizantes, con énfasis en microorganismos entre ellas las bacterias, con o sin simbiosis con las plantas, resultando benéfico para fertilizar cultivos y suelos. En la investigación, los mayores porcentajes de germinación de semillas de fresa, se obtuvo al aplicar una concentración bacteriana equivalente al estándar 1 McFarland, respecto a la concentración 0.5 McFarland, la diferencia entre ambas inoculaciones sería la densidad



poblacional bacteriana en la rizósfera, ya que se requiere que posean una alta capacidad competitiva frente a la microflora nativa del suelo, que pueda influir de forma positiva al crecimiento vegetal (Rueda et al., 2015).

Los aislamientos de *Azotobacter* sp obtenidos a partir de suelos de Challabamba originaron el menor promedio de germinación de semillas de fresa, la causa probable posiblemente sea que algunos aislamientos bacterianos no produzcan ácido indol acético principal fitohormona auxina promotora de la germinación, tampoco solubilizan fosfato tricálcico, asimismo, a que la bacteria presentó una respuesta rápida adhiriéndose a los exudados celulares de las primeras raíces que interactúan con estos microorganismos, de tal manera que libera las fitohormonas, llegando a incrementar hasta en 125 % el porcentaje de germinación respecto al control (Ibarra y Llica, 2020).

Por lo tanto, luego de analizar e interpretar la relación de *Azotobacter* sp y la germinación de las semillas de fresa, se acepta la hipótesis alterna planteada en el proyecto de investigación, que afirmaba: *Azotobacter* sp aislada de suelos de los distritos de Challabamba (Cusco) y Acora (Puno) originan efectos de incrementar del porcentaje de germinación de semillas de fresa (*Fragaria* sp) frente al control y entre los resultados se tuvo que las dos concentraciones de *Azotobacter* sp aisladas del distrito de Acora (Puno) y la concentración bacteriana aislada del distrito de Challabamba (Cusco) superaron los porcentajes de germinación al tratamiento control.

En la investigación se observó que los aislamientos de *Azotobacter* sp de los distritos de Puno y Cusco presentaron efectos positivos en la germinación de semillas de fresa, siendo mayor al inocular concentraciones alta de bacterias con respecto al tratamiento control; esto sería beneficio para los productores de fresa del distrito de Acora



ya que vienen fomentando la producción de ésta fruta ecológica u orgánica libre de agroquímicos y la aplicación bacteriana se constituiría en una alternativa biotecnológica amigable con el medio ambiente, no solo manteniendo la calidad de los suelos sino cuidando la salud de los consumidores.

4.2 EFECTO DE *Azotobacter* sp EN PLÁNTULAS DE FRESA (*Fragaria* sp) DURANTE DOS MESES DE CULTIVO

4.2.1 Crecimiento de raíces

Tabla 2

Índice de efectividad de inoculación (IEI) de Azotobacter sp en el crecimiento de raíces de plántulas de fresa (Fragaria sp).

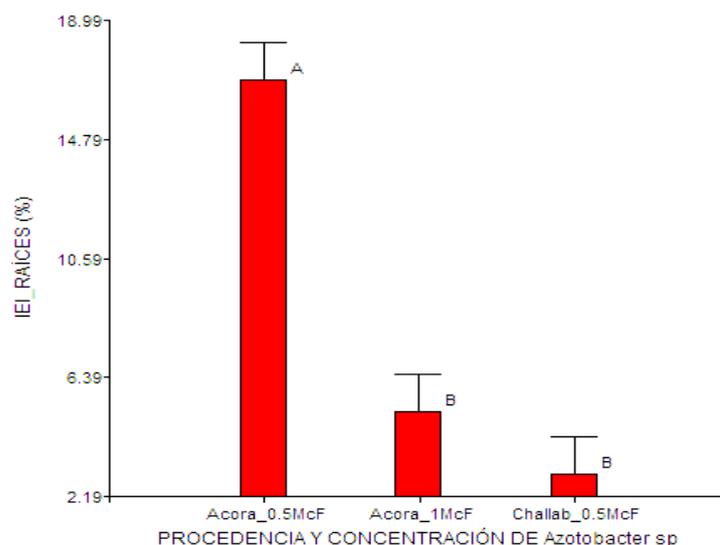
| Tratamientos | N° planta | Longitud de raíces (cm) | | |
|---------------------------|--------------------------------------|-------------------------|------------|----------------|
| | | Sin inoculación | Inoculadas | IEI-raíces (%) |
| Azot - Acora 0.5 McF | 1 | 8.0 | 9.5 | 18.75 |
| | 2 | 8.3 | 9.5 | 14.46 |
| | 3 | 8.1 | 9.5 | 17.28 |
| | 4 | 8.3 | 9.3 | 12.05 |
| | 5 | 8.2 | 10.0 | 21.95 |
| | Promedio | | | 16.90 |
| | Coefficiente de variación (%) | | | 22.65 |
| Azot - Acora 1 McF | 1 | 8.0 | 8.6 | 7.50 |
| | 2 | 8.1 | 8.5 | 4.94 |
| | 3 | 8.1 | 8.8 | 8.64 |
| | 4 | 8.3 | 8.7 | 4.82 |
| | 5 | 8.2 | 8.4 | 7.32 |
| | Promedio | | | 6.64 |
| | Coefficiente de variación (%) | | | 25.43 |
| Azot - Challab 0.5 McF | 1 | 8.1 | 8.5 | 4.94 |
| | 2 | 8.1 | 8.4 | 3.70 |
| | 3 | 8.1 | 8.3 | 2.47 |
| | 4 | 8.3 | 8.5 | 2.41 |
| | 5 | 8.2 | 8.4 | 2.44 |
| | Promedio | | | 3.19 |
| | Coefficiente de variación (%) | | | 35.07 |

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 2 se observa que el índice de efectividad de inoculación (IEI) de *Azotobacter* sp en el crecimiento de raíces de plántulas de fresa fue de 16.90 % (rango de 12.05 % a 21.95 %), siendo mayor con el tratamiento de bacterias aisladas del distrito de Acora a una concentración estándar 0.5 de McFarland (Azot – Acora 0.5 McF); a continuación se ubica el IEI de 6.64 % (rango de 4.82 % a 8.64 %) obtenidas con bacterias procedentes de Acora a una concentración del estándar 1 McFarland (Azot – Acora 1 McF); y finalmente se ubica el IEI de 3.19 % (rango de 2.41 % a 4.94 %) obtenido en el tratamiento con bacterias aisladas del distrito de Challabamba a una concentración del estándar 0.5 McFarland (Azot – Challab 0.5 McF). Los coeficientes de variación fueron de 22.65 %, 25.43 % y 35.07 %, los dos primeros indican que los datos del IEI de *Azotobacter* sp en plántulas de fresa presentan una dispersión aceptable con relación a su promedio; mientras que la tercera posee una dispersión moderada pero tolerable respecto de su promedio.

Figura 3

Prueba de Tukey del índice de efectividad de inoculación (IEI) de la longitud de raíces de fresa (Fragaria sp) post inoculación con Azotobacter sp.



Fuente: Elaboración propia.



El análisis de varianza realizado a los valores de IEI de *Azotobacter* sp en raíces de plántulas de fresa, presentaron diferencia estadística significativa debido a que se obtuvo una F calculada de 31.81 y un P – valor menor a 0.0001 y éste último es menor a 0.05. Luego de determinar la existencia de diferencia estadística entre los tratamientos, la prueba de Tukey manifiesta que el tratamiento Azot - Acora 0.5 McF fue mejor que los tratamientos Azot – Acora 1 McF y Azot - Challab 0.5 McF y entre estos últimos no existió diferencia entre ellos (Figura 3).

Los promedios de IEI en el crecimiento de raíces de fresa son relativamente bajos, el mayor fue de 16.90 % inoculando *Azotobacter* sp aislado de Acora en una concentración estándar 0.5 McFarland. Estos resultados fueron inferiores a los IEI de 27.58 % en el volumen radicular de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) inoculados con *Azotobacter* sp (Escobar et al., 2011). Los bajos IEI obtenidos en el estudio se debería a que las bacterias aisladas no poseerían la capacidad de producir ácido indolacético, una potente auxina, capaz de estimular el crecimiento radicular de las plantas. Al respecto Escobar et al. (2011) indican que las cepas de *Azotobacter* spp ZC26 y TC20 aisladas en Lambayeque (Perú), pueden llegar a producir una cantidad de 57.99 mg/l, por lo que existe una variabilidad entre bacterias *Azotobacter* sp, esta afirmación es corroborada por Celis y Gallardo (2008), quienes registran que las auxinas (ácido indol acético) promueven el crecimiento y la diferenciación celular, incrementando el volumen radicular.

Sin embargo, Mantilla (2007) afirma que las hormonas (auxinas) producidas en bajas concentraciones serían ideales para un mejor crecimiento vegetal, mientras que a altas concentraciones producen efectos inhibitorios. Esta sería la razón por la cual la concentración bacteriana 0.5 McFarland, tuvo mejores IEI frente a la concentración



bacteriana 1 McFarland, que a mayor concentración bacteriana se presentaría mayor producción de auxinas y por tanto la inhibición del crecimiento de las raíces. Por otro lado, Romero et al. (2017) adiciona que la especie *Azotobacter chroococcum* a parte de fijar nitrógeno, poseen la capacidad de solubilizar fósforo, producir enzimas hidrolíticas y sintetizar compuestos indólicos, con todo ello originan una influencia positiva en el caso del crecimiento del algodón.

Los bajos IEI entre 3.19 % a 16.90 % determinados en la presente investigación, podría deberse a que *Azotobacter* sp fue inoculada de manera individual y en diversos reportes científicos indican mayor efectividad en aplicaciones de consorcios, debido a las interacciones de cooperación y simbiosis existente entre los microorganismos, que beneficiarían el crecimiento y desarrollo o bien permitir su supervivencia (Coyne, 2000; Escobar et al., 2011).

Otra causa del porque se obtuvieron bajos valores de IEI, probablemente sea el pH del suelo, la humedad y la carencia de materia orgánica, ya que se cultivaron las plántulas en macetas conteniendo arena fina previamente desinfectada, de todos estos parámetros sólo se determinó el pH de los suelos de Acora y Challabamba con 5.6 y 5.3, respectivamente. Ortiz et al. (2016), en Texcoco (México) determinaron que las fresas crecen mejor en suelos con pH 4.4, en razón de que es indispensable en la fisiología bacteriana; Coyne (2000) indica que *Azotobacter* sp fue aislado en suelos con pH promedio de 5.5; y Escalante (2018), determinó mayor recuento de bacterias biofertilizantes en suelos con valores de pH 6.90 procedentes de centro poblado de Camicachi (distrito de Ilave, región Puno), en ese sentido es probable que los IEI bajos, se debieran a que las bacterias no hayan subsistido en un ambiente adecuado para su crecimiento, ya que a valores de pH menores a 4.4 o mayores a 8.8 alteran la fisiología y



morfología proteica intracelular bacteriana en especial las enzimas que regulan su metabolismo.

El suelo es un factor muy importante que influye en la fisiología de *Azotobacter* sp como biofertilizante, según Srivastava et al. (2015), indican que las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, varían su eficacia según el clima, el tipo de cultivo y la composición del suelo, aunado a ello mencionan también la inoculación individual en un suelo agrícola estéril sin materia orgánica y nutrientes, lo suficiente para lograr el crecimiento bacteriano; por otro lado, Creus (2017) afirma que el potencial biofertilizante se debería a la capacidad del inoculante (bacteria) de lograr la colonización radicular y eso dependerá de los nutrientes que liberen las raíces de la planta para atraer a las bacterias.

4.2.2 Crecimiento de tallos

Tabla 3

Índice de efectividad de inoculación (IEI) de Azotobacter sp en el crecimiento de la longitud de tallos en plántulas de fresa (Fragaria sp).

| Tratamientos | N° planta | Longitud de tallos (cm) | | |
|---------------------------|--------------------------------------|-------------------------|------------|---------------|
| | | Sin inoculación | Inoculadas | IEI_Tallo (%) |
| Azot – Acora 0.5 McF | 1 | 13.5 | 18 | 33.33 |
| | 2 | 11.4 | 15.6 | 36.84 |
| | 3 | 10.7 | 15.3 | 42.99 |
| | 4 | 13.8 | 19.5 | 41.30 |
| | 5 | 12.2 | 18.2 | 49.18 |
| | Promedio | | | 40.73 |
| | Coefficiente de variación (%) | | | 14.87 |
| Azot – Acora 1 McF | 1 | 10.6 | 13.5 | 27.36 |
| | 2 | 16.0 | 20.4 | 27.50 |
| | 3 | 10.1 | 14.2 | 40.59 |
| | 4 | 11.9 | 15 | 26.05 |
| | 5 | 14.9 | 18 | 20.81 |
| | Promedio | | | 28.46 |
| | Coefficiente de variación (%) | | | 25.68 |
| Azot – Challab 0.5 McF | 1 | 13.6 | 16 | 17.65 |
| | 2 | 4.97 | 6 | 20.72 |
| | 3 | 17.1 | 19 | 11.11 |
| | 4 | 15.2 | 18.4 | 21.05 |
| | 5 | 13.1 | 15 | 14.50 |
| | Promedio | | | 17.00 |
| | Coefficiente de variación (%) | | | 24.89 |

Fuente: Elaboración propia.

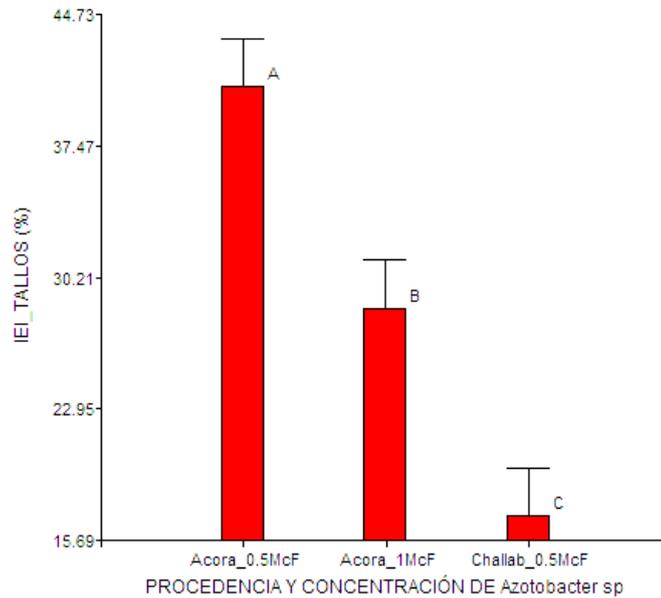


En la Tabla 3 se observa que el promedio de IEI de *Azotobacter* sp a una concentración 0.5 McFarland (Azot – Acora 0.5 McF) sobre el crecimiento de tallos de plántulas de fresa fue de 40.73 % (33.33 % a 49.18 %); a continuación se ubica el IEI de 28.46 % (20.81 % a 40.59 %) obtenidas con bacterias procedentes de Acora a una concentración 1 McFarland (Azot – Acora 1 McF); al final se tiene el IEI de 17.00 % (rango de 11.11 % a 21.05 %) obtenido en el tratamiento con bacterias aisladas del distrito de Challabamba a una concentración 0.5 McFarland (Azot – Challab 0.5 McF). Los coeficientes de variación fueron de 14.87 %, 25.68 % y 24.89 %, con ello se afirma que los datos de los IEI de *Azotobacter* sp en el crecimiento de tallos de plántulas de fresa presentaron una dispersión aceptable con relación a su promedio.

El análisis de varianza ejecutado a los valores promedio de IEI de *Azotobacter* sp en el crecimiento de tallos de plántulas de fresa presentaron diferencia estadística significativa, debido a que se obtuvo una F calculada de 19.55 y un P – valor igual a 0.0002 y éste último es menor a 0.05. Luego que existiera diferencia estadística entre los tratamientos, la prueba de Tukey manifestó que el tratamiento Azot - Acora 0.5 McF fue el mejor a diferencia de Azot – Acora 1 McF y éste último fue superior al tratamiento Azot - Challab 0.5 McF entre ellos (Figura 4).

Figura 4

Prueba de Tukey del índice de efectividad de inoculación (IEI) de la longitud del tallo de plántulas de fresa (Fragaria sp) pos inoculación con Azotobacter sp.



Fuente: Elaboración propia.

Azotobacter sp, logró IEI de 40.73 % en plántulas de fresa respecto al crecimiento de la longitud de tallos, estos resultados fueron corroborados por León et al. (2012) quienes en Pinar del Rio (Cuba), aplicaron *Azotobacter chroococcum* en plántulas de tabaco y lograron mejorar las características morfológicas del diámetro y la longitud de los tallos. Asimismo, Cerna et al. (2018) en Trujillo (Perú), evaluaron el sinergismo de *Azotobacter chroococcum* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en el crecimiento de lechuga determinando la longitud del tallo, que se incrementó significativamente. Pincay (2020) en Quevedo (Ecuador), inocularon bacterias promotoras del crecimiento vegetal en pastos, obteniendo que el pasto *Andropogon gayanus* presentó mayor longitud y biomasa de raíces luego de inocular *Azotobacter beijerinckii*, en ese sentido las bacterias aisladas en la presente investigación poseen capacidad estimulante del incremento de la longitud de tallos.



El incremento de las longitudes de tallos, se debería a la biosíntesis de fitohormonas como auxinas, giberelinas y citoquininas, que vendrían estimulando el alargamiento celular y la multiplicación de células. De igual modo Moreno et al. (2018) manifiestan que las bacterias biofertilizantes poseen mecanismos directos sobre las células vegetales, solubilizan fósforo inorgánico, constituyéndose fuente importante para la generación de ATP para el crecimiento de los tallos, incremento de permeabilidad de la raíz y la disminución de la toxicidad por metales pesados.

El crecimiento de los tallos presentó el mayor IEI de 40.73 % luego de ser inoculados con una concentración de *Azotobacter* sp 0.5 McFarland, representando una efectividad moderada, dicho estímulo se debería a que la bacteria en mención posee la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico en aerobiosis (Coyne, 2000), donde sus colonias presentan un aspecto mucoso e indica síntesis de exopolisacáridos (Luque et al., 2010). Por otro lado, *Azotobacter* sp solubiliza sales de fosfato tricálcico (Rojas, 2013), que al liberar el fósforo soluble llega a ser aprovechado por las plantas (Álvarez, 2012). Asimismo, las bacterias en mención biosintetizan indoles entre 27 – 60 ppm (Obando et al., 2010), siendo el principal indol el ácido indolacético (Celis y Gallardo, 2008) y poseen potencial de biocontrol de plagas (Bhattacharyya y Jha, 2012).

Pero por alguna razón desconocida que debería de ser estudiado con mayor detalla, es que las *Azotobacter* sp aisladas de Challabamba produjeron IEI muy bajos, eso se debe a que no todos los aislamientos de *Azotobacter* sp fijan nitrógeno, solubilizan fosfato o producen indoles, existen excepciones como *Azotobacter* sp 25-60LG quienes no tienen dichas capacidades (Esqueche y Quispe, 2017).

4.3.3 Incremento de peso de plantas

Tabla 4

Índice de efectividad de inoculación (IEI) de Azotobacter sp en el incremento de peso de plántulas de fresa (Fragaria sp).

| Tratamientos | N° planta | Peso de la planta (g) | | |
|-------------------------|--------------|-----------------------|--------------------------------------|--------------|
| | | Sin inoculación | Inoculadas | IEI_Peso (%) |
| Azot – Acora 0.5 McF | 1 | 8.4 | 11.5 | 36.90 |
| | 2 | 7.1 | 10.5 | 47.89 |
| | 3 | 9.7 | 13.5 | 39.18 |
| | 4 | 9.8 | 12.6 | 28.57 |
| | 5 | 6.7 | 8.4 | 25.37 |
| | | | Promedio | 35.58 |
| | | | Coefficiente de variación (%) | 25.12 |
| Azot - Acora 1 McF | 1 | 6.8 | 8.4 | 23.53 |
| | 2 | 15.8 | 19.0 | 20.25 |
| | 3 | 3.7 | 5.0 | 35.14 |
| | 4 | 6.5 | 8.8 | 35.38 |
| | 5 | 5.7 | 7.0 | 22.81 |
| | | | Promedio | 27.38 |
| | | | Coefficiente de variación (%) | 26.47 |
| Azot – Challab | 1 | 9.2 | 11.2 | 21.74 |
| 0.5 McF | 2 | 5.6 | 7.9 | 41.07 |



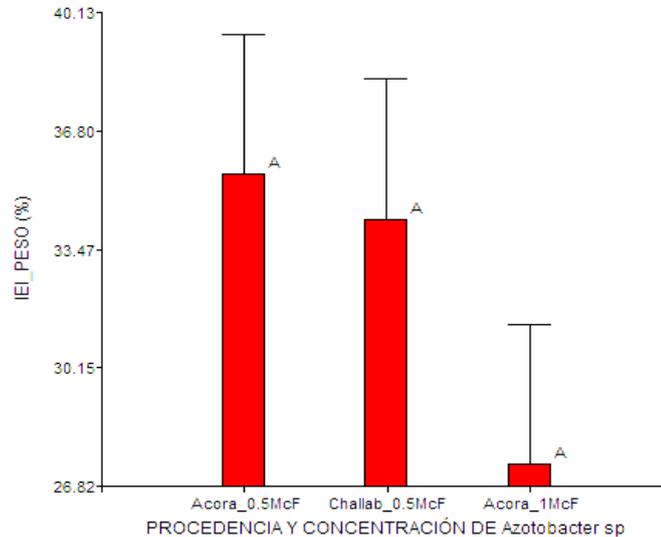
| | | | |
|--------------------------------------|-----|------|-------|
| 3 | 9.0 | 12.0 | 33.33 |
| 4 | 7.4 | 9.5 | 28.38 |
| 5 | 6.8 | 10.0 | 47.06 |
| Promedio | | | 34.32 |
| Coefficiente de variación (%) | | | 29.23 |

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 4 se observa que el promedio de IEI de *Azotobacter* sp en el incremento de peso de las plántulas de fresa con 25.35 % (rango de 25.37 % a 47.89 %), siendo este el mayor con el tratamiento de bacterias aisladas del distrito de Acora a una concentración estándar 0.5 de McFarland; a continuación se ubica el promedio de IEI de 27.38 % (Rango de 20.25 % y 35.38 %) obtenidas mediante la inoculación de bacterias procedentes de Acora a una concentración del estándar 1 McFarland (Azot – Acora 1 McF); y finalmente se tiene el promedio de IEI de 34.32 % (rango de 21.74 % a 47.96 %) obtenido mediante el tratamiento con bacterias aisladas del distrito de Challabamba a una concentración del estándar 0.5 McFarland (Azot – Challab 0.5 McF). Los coeficientes de variación fueron de 25.12 %, 26.47 % y 29.23 % para cada tratamiento, con estos resultados se afirma que los datos del IEI de *Azotobacter* sp en plántulas de fresa presentan una dispersión aceptable respecto de su promedio.

Figura 5

Prueba Tukey del índice de efectividad de inoculación (IEI) del peso de plántulas de fresa (Fragaria sp) post inoculación con Azotobacter sp.



Fuente: Elaboración propia.

El análisis de varianza realizado a los valores de IEI de *Azotobacter sp* en el incremento de peso en plántulas de fresa no presentaron diferencia estadística significativa debido a que se obtuvo una F calculada de 1.24 y un P – valor menor a 0.3238 y éste último es mayor a 0.05. A pesar de no existir diferencia estadística entre los tratamientos, en la Figura 5 se visualiza que los mayores promedios se obtuvieron con *Azotobacter sp* procedente de los distritos de Acora y Challabamba a concentraciones estándar 0.5 McFarland, superando al tratamiento procedente del distrito de Acora y la concentración estándar 1 McFarland (Figura 3).

Los IEI del peso de plántulas de fresa presentaron promedios de 27.38 % y 35.58 %, estos resultados fueron superados por los índices registrados por Chafloque y Monje (2019) quienes obtuvieron IEI de altura de plantas de *Asparagus officinalis* L. entre 67.67 % y 78.33 % luego de 150 días de cultivo; asimismo, fueron inferiores a los reportados



por Silva y Zúñiga (2017), quienes al inocular *Azotobacter* sp en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) luego de 60 días de cultivo registraron IEI entre 33.32 % y 103.39%.

Las concentraciones bacterianas 0.5 y 1 McFarland de *Azotobacter* sp tuvieron el mismo efecto en el peso de las plántulas de fresa, se esperaba que a mayor concentración bacteriana (1 McFarland) el crecimiento vegetal sería mayor, pero sucede que las altas concentraciones de auxinas producidas por elevadas cantidades de *Azotobacter* sp, conllevarían a que los tejidos sintetizaran etileno, que es una fitohormona con capacidad de inhibición de la elongación de las raíces (Camelo et al., 2011).

La aplicación de *Azotobacter* sp incrementa el crecimiento vegetal y por tanto la biomasa, lo cual es corroborado por León et al. (2012), al obtener elevados diversos parámetros biométricos en plántulas de tabaco. Asimismo, coincide con los resultados obtenidos por Ibarra y Llica (2020), quienes aplicaron *Azotobacter* sp en *Raphanus sativus*, acrecentando también su peso fresco. Otros autores como Ancco (2016), Mamani (2017) y Cerna et al. (2018) reportan mejores resultados al inocular en *Allium cepa* y *Lactuca sativa* consorcios de *Azotobacter* sp y otras bacterias, por lo que queda abierta realizar investigación de inoculación de consorcios de biofertilizantes en diferentes cultivos. Se desconoce el mecanismo exacto de cómo se promueve el crecimiento vegetal, pero Kachhap et al. (2015), López et al. (2013) y Abdel et al. (2014), proponen que sería gracias a la producción de fitohormonas, la solubilización de fosfatos, la inhibición de organismos deletéreos y el aumento de la absorción de nutrientes, impulsado por *Azotobacter* sp, que incrementarían la biomasa radicular y el mejor crecimiento vegetal.

Borda et al. (2011), mencionan que un suelo carente o con una baja densidad de *Azotobacter*, el crecimiento vegetal dependerá de las características del suelo, como la



humedad, el flujo de masas y la difusión de nutrientes, que limitaría la absorción de nutrientes vegetales. Otro factor edafológico que influiría en el crecimiento de las plántulas son los niveles de oxígeno del suelo, que impide el normal desarrollo de raíces, disminuye la absorción de agua y los nutrientes (Hernández et al., 2015).

En el trabajo de investigación los aislamientos de *Azotobacter* sp obtenidos desde suelos del distrito de Challabamba (Cusco) generalmente presentaron menores IEI que los obtenidos en el distrito de Acora (Puno), esto se debería a que las cepas de *Azotobacter* sp empleadas varían genéticamente de zona en zona, asimismo el reducido número de colonias aisladas de Challabamba se debería probablemente a que los suelos presentan sustancias tóxicas como agroquímicos o excesiva salinidad (Alvarado et al., 2019). En la presente investigación la concentración bacteriana no influyó en el incremento de peso de las plántulas de fresa, resultados parecidos a los mencionados por Martínez y Dibut (2006) quienes en un suelo cubano determinaron recuentos bacterianos de 10^4 a 10^5 UFC/g sin observar respuestas en el crecimiento vegetal, pero al inocular concentraciones bacterianas de 10^9 UFC/g, si lograron una respuesta positiva en los cultivos, aquí cabe la posibilidad que las bacterias no posean la capacidad de liberar en el suelo las diversas sustancias que estimulan el crecimiento vegetal.

Las condiciones ambientales del altiplano peruano es propia de la zona, como un clima seco, frígido, con alta radiación solar entre otras características, lo cual incidirían negativamente en la fisiología bacteriana y sus efectos en las plantas, esta afirmación lo corrobora Valery y Reyes (2013) quienes concluyen que las cepas autóctonas de una zona de estudio se adaptan mejor a dichas condiciones, por lo tanto serán capaces de lograr mejores crecimientos con rapidez y efectividad en los cultivos, en razón que podrían presentarse antagonismos y sinergismos entre las poblaciones microbianas residentes.



A parte de las sustancias reguladoras del crecimiento mencionadas en párrafos anteriores, Hussain y Srinivas (2013) indican que *Azotobacter* sp acelera el desarrollo radicular, que conlleva a un buen crecimiento de las plántulas en experimentación, debido a la genética que poseen, al respecto Gupta et al. (2014) realizaron el hallazgo que el genoma de las rizobacterias posee el gen *H2S*, o para la síntesis de sulfito de hidrógeno, que incrementaría la germinación de semillas, asimismo, *Azotobacter* sintetiza la enzima ácido 1-aminociclopropano1-carboxilato desaminasa conocida como ACC desaminasa, que neutralizaría la presencia de enfermedades en las plantas (García et al., 2015) facilitando el crecimiento vegetal, así como la biosíntesis de ácido indol acético y la regulación de los niveles de etileno (Glick, 2014).

Es probable que los diversos aislamientos de *Azotobacter* sp tengan variaciones genéticas y por lo tanto diferencias de sus efectos sobre el crecimiento de las plantas, Ortega et al. (2016) determinó que rizobacterias aisladas del cultivo del coco, demostraron la producción de ácido indol acético, amonio, ácido giberélico, proteasas, sideróforos, catalasas, celulasas y solubilizan fosfatos, Sahoo et al. (2014) agrega que fijan nitrógeno y Baars et al. (2018) afirman que protegen a los cultivos de diversos estreses bióticos y abióticos. La capacidad estimulante de *Azotobacter* sp estudiada en la presente investigación, influyó positivamente en el crecimiento de plántulas de fresa, esto se debe probablemente a la producción de metabolitos secundarios y fitohormonas como auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido nicotínico, tiaminas, ácido pantoténico y muchas vitaminas las que estimularían el crecimiento vegetal (Ferrer y Herrera, 1991; Acosta, 1995), que por fijar nitrógeno, sintetizar sustancias fungistáticas (Ferrer y Herrera, 1991), nitrógeno o fósforo en el suelo (Vessey, 2003).



La inoculación bacteriana se realizó a nivel de semillas y en plántulas de fresas en varias ocasiones, obteniendo bajas cifras de IEI, se piensa que lo ideal hubiera sido inocular a las semillas y luego de 30 días en las plántulas, tal como se realizó en plántulas de papaya, obteniendo mejores resultados en el crecimiento y la nutrición vegetal, la razón sería que la rizobacteria no fue inoculada en su etapa más receptiva (Brown y Burlingham, 1968), coincidiendo con Kapulnik et al. (1985), quienes inocularon semillas de trigo con *Azospirillum* y luego de 20 días después de la emergencia, los mejores efectos se observaron en la germinación a causa de las fitohormonas como las auxinas.

Luego de evaluar los resultados obtenidos en la presente investigación, se acepta la hipótesis planteada en el proyecto de investigación, que afirmaba: “*Azotobacter* sp aislada de suelos de los distritos de Challabamba (Cusco) y Acora (Puno) originan efectos de incrementar la longitud de las raíces, longitud de tallos y el peso total de las plántulas de fresa (*Fragaria* sp) durante dos meses de cultivo”, y en la investigación a pesar de haber obtenido IEI entre baja y moderada, se logró incrementar la longitud de raíces, longitud de tallos y el peso de las plántulas de fresa.

En la investigación se determinó que *Azotobacter* sp posee un potencial biofertilizante al inocular plántulas de fresa, a pesar de lograr IEI bajos y moderados en el crecimiento de raíces, longitud de tallos e incremento de peso, las causas principales del estímulo bacteriano en el crecimiento vegetal serían: la producción de fitohormonas y sustancias activas de nutrición vegetal y el efecto antagónico que pueden presentar frente a organismos patógenos de las plantas, por todas estas bondades la aplicación de *Azotobacter* sp sería beneficioso para aplicarlo en los campos de cultivo de fresa y otros cultivos andinos.



V. CONCLUSIONES

- *Azotobacter* sp aislada de suelos del distrito de Acora (Puno) a una concentración bacteriana de 3×10^8 cél/ml (estándar 1 McFarland) logró el mayor promedio de porcentaje de germinación en semillas de fresa (56.00 %), siendo estadísticamente ($P < 0.05$) superiores a la concentración bacteriana de 1.5×10^8 cél/ml (estándar 0.5 McFarland) procedentes de Challabamba y Acora, con promedios de germinación de semillas de 41.33 % y 36.67 %, respectivamente.
- *Azotobacter* sp aislada de suelos del distrito de Acora a una concentración bacteriana de 1.5×10^8 cél/ml (estándar 0.5 McFarland) logró los mayores IEI en la longitud de raíces y tallos con promedios de 16.90 % y 40.73 %, respectivamente ($P < 0.05$); mientras tanto que los IEI fueron similares al inocular bacterias aisladas del distrito de Acora y Challabamba ($P > 0.05$).



VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar el estudio de las características fisicoquímicas de los suelos donde se realizarán los cultivos de las plántulas de fresa inoculadas con *Azotobacter* sp, ya que podrían influir en el crecimiento bacteriano.
- Se recomienda realizar estudios de identificación molecular de los aislamientos de *Azotobacter* sp procedentes de los suelos del altiplano peruano.
- Se recomienda determinar si los aislamientos de *Azotobacter* sp procedentes de los suelos del altiplano peruano, producen ácido indol acético, solubilizan fosfatos y cuantificar el nitrógeno fijado.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel, S., Eweda, W., Girgis, M. y Abdel, B. (2014). Improving the productivity and quality of black cumin (*Nigella sativa*) by using *Azotobacter* as N₂ biofertilizer. *Annals of Agricultural Science*, 59(1), 95-108. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aosas.2014.06.014>.
- Acosta M. (1995). Uso de bioestimulantes en la fase de adaptación de vitroplantas de papa, banano y caña de azúcar. *Centro Agrícola*. Vol. 2:54-67.
- Agencia Andina (2020). Puno: el cultivo de fresa se ha convertido en el emprendimiento estrella de Acora. Publicación de fecha: 6 de octubre 2020. <https://andina.pe/agencia/noticia-puno-cultivo-fresa-se-ha-convertido-el-emprendimiento-estrella-acora-816477.aspx>.
- Aguado, G. (2012). Introducción al uso y manejo de los fertilizantes en la agricultura. México. INIFAP/SAGARPA. México. 1 – 19.
- Alcarraz, M., Gonzáles, E. y Heredia, V. (2020). *Azotobacter* y *Rhizobium* como biofertilizantes naturales en semillas y plantas de frijol caupí. *Rev. Avances*. Vol. 22(2): 239-251. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7925387>.
- Alvarado, K., Blanco, A., Martín, G., Ríos, Y., Capdesuñer, R., Matos, K. y de la Noval, B. (2019). Influencia de un sistema de abonado orgánico y *Azotobacter chroococcum* sobre posturas de cocotero. *Rev. Cultivos Tropicales*. Vol. 40 (1): a06-e06. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v40n1/1819-4087-ctr-40-01-e06.pdf>.
- Álvarez, M., Tuca, F., Quispe, E. y Meza, V. (2018). Incidencia de la inoculación de microorganismos benéficos en el cultivo de fresa (*Fragaria* sp). *Scientia Agropecuaria*. Vol. 9(1): 33–42. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.04>.
- Álvarez, P. (2012). Selección y evaluación de microorganismos solubilizadores de fosfatos en suelos calcáreos del valle del Mantaro. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú.



- Ancco, I. (2016). Efecto del consorcio *Azospirillum* sp y *Azotobacter* sp en el crecimiento y producción del cultivo de *Allium cepa* L. var. amarilla “cebolla” en condiciones de campo Los Pichones – Tacna. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna. <http://tesis.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3524>.
- Andrade, K., Castillo, I. y Rossel L. (2020). Quality of agricultural soils in the interior bay of Puno, Perú – 2018. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*. Vol. 29(2): 42-52.
- Atlas, M. y Bartha R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Segunda Edición. Editorial Addison Wesley. Madrid – España. 217 – 218.
- Baars, O., Zhang, X., Gibson, M., Stone, A., Morel, F. y Seyedsayamdost, M. (2018). Crochelins: Siderophores with an Unprecedented Iron-Chelating Moiety from the Nitrogen-Fixing Bacterium *Azotobacter chroococcum*. *Angewandte Chemie*. 2018;130(2):545–50. [Doi: 10.1002/ange.201709720](https://doi.org/10.1002/ange.201709720).
- Babu, S., Prasanna, R., Bidyarani, N., Nain, L. y Shivay, Y. (2015). Synergistic action of PGP agents and *Rhizobium* spp. for improved plant growth, nutrient mobilization and yields in different leguminous crops. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Vol. 1(4):456-64.
- Baixxauli, C. y Aguilar, O. (2002). *Cultivo sin suelo de hortalizas. Aspectos prácticos y experiencias*. Edición Generalitat Valenciana. Valencia. España.
- Bednář, M. y Šarapatka, B. (2018). Relationships between physical – geographical factors and soil degradation on agricultural land. *Environmental Research*. Vol. 164: 660-668. [DOI: https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.03.042](https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.03.042).
- Bhattacharyya, P. y Jha, D. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal Microbiology and Biotechnology*. Vol. 28: 1327-1350.
- Bianchi, P. (1999). *Guía completa del cultivo de fresa*. Segunda edición. Editorial De Vecchi. España. 94 p.



- Borda, D., Pardo, J., Montaña, J., Martínez, M. (2011). Influencia de la materia orgánica y *Azotobacter nigricans* en un cultivo de *Stevia rebaudiana* B. *Universitas Scientiarum*. Vol. 16(3):282–93.
- Brown M. y Burlinghams K. (1968). Production of plant growth substances by *Azotobacter chroococcum*. *Journal of General Microbiology*. Vol. 53: 135-144.
- Bruinsma, J. (2003). *World agriculture: Towards 2015/2013 en FAO perspective*. Rome: FAO.
- Calderon, L. (2015). Influencia de la temperatura y luz artificial en la maduración de la fresa en Arequipa, 2018.
- Camelo, M., Vera, S. y Bonilla, R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. Vol. 12 (2): 159-166
- Carrillo A., Puente M., Castellanos T. y Bashan Y. (1998). Aplicaciones biotecnológicas de ecología microbiana. Manual de laboratorio. Eds. Pontificia Universidad Javeriana, Santa Fe de Bogotá, Colombia y Centro de Investigaciones Biológicas de Noroeste S. C. La Paz, Baja California Sur, México.
- Carvajal, J. y Mera A. (2010). Fertilización biológica: técnica de vanguardia para el desarrollo agrícola sostenible. *Producción + Limpia*. Vol. 5 (2): 77.
- Casierra, F. y Peña, J. (2015). Modificaciones fotomorfogénicas inducidas. <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/viewFile/276/157>.
- Celia de la Cuadra. (1993). Germinación, latencia y dormición de las semillas. *Biología - Instituto Nacional de Reforma y Desarrollo Agrario, Madrid- España*. 24 p.
- Celis, L. y Gallardo, I. (2008). Estandarización de métodos de detección para promotores de crecimiento vegetal (ácido indolacético y giberelinas) en cultivos microbianos. Tesis de Microbiólogo Agrícola y Veterinario. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Cerna, T., Salinas, E. y Soriano, B. (2018). Sinergismo entre *Azotobacter chroococcum* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en el crecimiento de *Lactuca sativa* “lechuga.”



Scientia Agropecuaria. Vol. 9(4):519–526.
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.04.07>.

- Constantino, M., Gómez, R., Álvarez, J., Pat, J. y Espín, E. (2011). Efecto de la inoculación del *Azotobacter chroococum* y *Glomus intraradices* en el crecimiento y nutrición de plántulas de papaya en fase de vivero. *Rev. Agronomía Costarricense*. Vol. 35 (1): 15-31.
<https://www.scielo.sa.cr/pdf/ac/v35n1/a02v35n1.pdf>.
- Coyne, M. (2000). *Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio*. Editorial Paraninfo. ITP An International Thomson Publishing company. Madrid – España. 416 p.
- Creus, C. (2017). Inoculantes microbianos: piezas de un rompecabezas que aún requiere ser ensamblado. *Rev Argent Microbiol*. Vol. 49: 207-209.
- Crossman, S. y Hill, W. (1987). Inoculation of sweet potato with *Azospirillum*. *Hort. Sci.* 420-422.
- Chafloque, F. y Monje, J. (2019). Efecto de *Azotobacter* spp. y enterobacterias en el desarrollo vegetativo de *Asparagus officinalis* L., en condiciones de invernadero. Tesis de Licenciado en Biología – Microbiología – Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Lambayeque – Perú. 96 p. <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/9058>.
- Dhanasekar, R., Viruthagiri, T. y Sabarathinam, L. (2003). Poly (3-hydroxybutyrate) synthesis from a mutant strain *Azotobacter vinelandii* utilizing glucose in a batch reactor. Maryland, USA.
- Díaz, P., Ferrera, R., Almaraz, J. y Alcántar, G. (2001). Inoculación de bacterias promotoras del crecimiento en lechuga. *Terra* 19: 327-335.
- Durner, E., Barden, J., Himelrick, D. y Poling, B. (1984). Photoperiod and temperatura effects on flower and runner development in day-neutral, junebearing, and everbearing strawberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* Vol. 109: 396-400.
- Escalante, M. (2018). Evaluación del potencial biofertilizante de bacterias *Azotobacter* sp aisladas de suelos cultivados de la región Puno y su efecto en plántulas de trigo



- (*Triticum aestivum*) 2018. Tesis de Licenciado en Biología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú. 80 p.
- Escobar, C., Horna, Y., Carreno, C. y Mendoza, G. (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersion esculentum* Mill. “tomate” en Lambayeque. Rev. Scientia Agropecuaria. Vol. 2 (1): 39-49.
<https://www.redalyc.org/pdf/3576/357633697005.pdf>.
- Espín, G. (2002). Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de México.
- Esqueche, A. y Quispe, G. (2017). Caracterización de bacterias del género *Azotobacter* aisladas de rizoplasma y rizósfera de *Asparagus officinalis* L. y su potencial como promotoras de crecimiento de plantas. Tesis de Licenciado en Biología Microbiología – Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. 142 p.
<https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/1123>.
- Farajzadeh, D., Yakhchal B., Aliasgharzad N. y Sokhandan N. (2009). Isolation and 59 identification of micro - organisms in isolation media for Azotobacteria. Unpublished.
- Ferrer, R. y Herrera, H. (1991). Breve reseña de los biofertilizantes. La Habana. IES – ACC. 4 p.
- Ferrucho, A. y Ruiz, D. (2013). Evaluación y comparación del comportamiento agronómico.
- Fitze D., Wiepning, A., Kaldorf, M. y Ludwigmüller, J. (2005). Auxins in the development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize. J Plant Physiol. Vol. 162:1210-1219.
- Flores, J. (2018). Caracterización molecular y funcional de biofertilizantes bacterianos, y análisis de su potencial para mejorar la producción de cultivos de maíz, guisante, lechuga, fresa y zanahoria. Universidad de Salamanca.
<https://gredos.usal.es/handle/10366/139502>.



- Folquer, F. (1986). La frutilla o fresa de la planta y su producción comercial. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- García, D. (2019). Aislamiento y caracterización de cepas de *Azotobacter* spp. y el efecto de la sobreexpresión de los SNRA: RsmZ1 y RsmZ6 sobre la producción de alginado. Tesis de Licenciado en Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México. 64 p.
- García, P., Menéndez, E. y Rivas, R. (2015). Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *AIMS Bioengineering*. Vol. 2(3):183–205. [Doi: 10.3934/bioeng.2015.3.183](https://doi.org/10.3934/bioeng.2015.3.183).
- García, Y., Ramírez, W. y Sánchez, S. (2012). Indicadores de la calidad de los suelos: una nueva manera de evaluar este recurso. *Pastos y Forrajes*. Vol. 35(2): 125-138. [DOI: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.12.004](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.12.004).
- Glick, R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*. Vol. 169(1):30–9. [Doi: 10.1016/J.MICRES.2013.09.009](https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2013.09.009).
- González, E., Alcarraz, M., Castro, A. y Casas S. (2018). Efecto del biofertilizante *Azotobacter - Rhizobium* en tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet), como alternativa a la fertilización química. *Rev. Ciencia e Investigación*. Vol. 21(2): 7 – 12. <file:///C:/Users/HUAWEI/Downloads/54710.pdf>.
- González, L. y Orozco, A. (1996). Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: *Manfreda brachystachya*. *Bol. Soc. Bot. México*. Vol. 58: 15–30.
- González, R., Dibut, B., Pulido, L., Lorenzo, J. e Iglesias, A. (2016). Aplicación de *Azotobacter chroococcum* en plantas de piña (*Ananas comosus*, L. Merr) cv. Cayena lisa, en fase de aclimatación. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*. Vol. 6(3). <https://revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/558/565>.
- Gothandapani, S., Sekar, S. y Padaria, J. (2017). *Azotobacter chroococcum*: utilization and potential use for agricultural crop production: an overview. *Int. J. Adv Res. Biol Sci*. Vol. 4(3):35-42.



- Gupta, A., Gopal, M., Thomas, V., Manikandan, V., Gajewski, J., Thomas, G., et al. (2014). Whole genome sequencing and analysis of plant growth promoting bacteria isolated from the rhizosphere of plantation crops coconut, cocoa and arecanut. Pellegrini M, editor. PLoS ONE. Vol. 9(8):1–14. [Doi: 10.1371/journal.pone.0104259](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104259).
- Gutiérrez, L., Jones, G., Strayer, L. y Iribarne, O. (2003). Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. Oikos. Vol. 101(1): 79-90. [DOI: https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2003.12322.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2003.12322.x).
- Hernández, A., Pérez, J., Bosch, D. y Castro, N. (2015). Clasificación de los suelos de Cuba. Mayabeque, Cuba. Ediciones INCA. 93 p.
- Huete, Y., Torres, J. y Domínguez, D. (2019). Comportamiento morfológico del maíz inoculado con *Azotobacter chroococcum* a dosis reducida de fertilizante nitrogenado. Avances, Centro de Información y Gestión Tecnológica. Vol. 21(2): 166–178. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7006742>.
- Hussain, A. y Srinivas, P. (2013). Evaluation of plant growth promoting traits by *Pseudomonas* and *Azotobacter* isolated from Rhizotic Soils of two selected agroforestry tree species of Godavari Belt Region, India. Vol. 4(3):431–6.
- Ibarra, J. y Llica, W. (2020). Determinación de la influencia de *Azotobacter* nativos en cultivos de *Raphanus sativus* como biofertilizante en el distrito de Pachía. Tesis de Ing. Ambiental. Facultad de Ingeniería, Universidad Privada de Tacna. Tacna – Perú. 90 p. <https://repositorio.upt.edu.pe/handle/20.500.12969/1627>.
- Kachhap, S., Chaudhary, A. y Singh, S. (2015). Response of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in relation to elevated temperature conditions in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). The Ecoscan, 9 (3-4), 771 – 178. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/286053867_Response_of_plant_growth_promoting_rhizobacteria_PGPR_in_relation_to_elevated_temperature_conditions_in_groundnut_Arachis_hypogaea_L



- Kapulnik Y., Gafny R. y Okon Y. (1985). Effect of *Azospirillum* spp. inoculation on root development and NO₃⁻ uptake in wheat (*Triticum aestivum* cv. Miriam) in hydroponic systems. *Can. J. Bot.* Vol. 63:627- 631.
- Kloepper, J., Zablotowicz, R., Tipping, E. y Lifshitz, R. (1991). Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In the rhizosphere and plant growth. p. 315-326. Springer, Dordrecht.
- Laura, Y., Moreno, Y. y Galvis, F. (2013). Potencial biofertilizante de bacterias diazótroficas aisladas de muestra de suelo rizosférico. *Pastos y Forrajes.* Vol. 36 (1).
- Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F. et al. (2006). Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology.* Vol. 42: S3-S15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.10.002>.
- Leal, S., Valenzuela, A., Gutiérrez, M., Bermúdez, M., García, J., Aldana, M., et al. (2014). Residuos de plaguicidas organoclorados en suelos agrícolas. *Terra latinoamericana.* Vol. 32(1): 1-11.
- León, Y., Martínez, R., Hernández, J. y Rodríguez, N. (2012). Aplicación de *Azotobacter chroococcum* en la producción de plántulas de tabaco negro. *Cultivos Tropicales.* Vol. 33(2): 29-32.
- López, M., Criollo, P., Gómez, R., Camelo, M., Estrada, G. Garrido, M. y Bonilla, R. (2013). Characterization of diazotrophic phosphate solubilizing bacteria as growth promoters of maize plants. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(2), 115-123. <https://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v15n2.36303>.
- Luque, R., Quesada, E., Bejar, V. y Llamas, I. (2010). Aislamiento de cepas del género *Halomonas* con interés biotecnológico en Rambla Salada (Murcia). *Ars Pharmaceutica.* Vol 51 (3): 453-462.
- Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J. (2003). *Brock Biología de los Microorganismos.* 10ma edición. Editorial Prentice – Hall. Madrid – España.



- Mamani, E. (2017). Dosis y numero de aplicaciones de un formulado biológico (*Azotobacter salinestris*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Rhizophagus intraradices*) en *Allium cepa* cv. Century.
- Mamani, J. (2018). Efecto de la inoculación con bacterias diazotróficas en la germinación y crecimiento de quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.) en condiciones controladas. Tesis de Licenciado en Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú.
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/8335>.
- Mantilla, M. (2007). Evaluación de la acción de un bioinoculante sobre un cultivo de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* var. yokoono) en periodo de enraizamiento. Tesis Microbiólogo Agrícola. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Maroto, J., Pascual, B., Alargada, J. y López, G. (1986). Mejora de la precocidad del cultivo de fresón (*Fragaria x ananassa* Duch. Cv Pájaro) mediante aplicaciones invernales de ácido giberélico. ITEA N° 63: 36-38.
- Martínez, V. y Dibut, B. (2006). Practical applications of bacterial biofertilizers and biostimulators. In: Biological approaches to sustainable soil systems. New York: CRC/Taylor & Francis; 2006. p. 467–77.
https://books.google.com/cu/books?id=lgbOBQAAQBAJ&pg=PA475&lpg=PA475&dq=Practical+applications+of+bacterial+biofertilizers+and+biostimulators&source=bl&ots=iIxnJ4st_&sig=fXJukP382VM6Jz3AhHIN9AINmaE&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjfzJG_j9zfAhVBiFkKHSfOCWMQ6AEwAXoE.
- Mautino, R. (2017). Evaluación del rendimiento en el cultivo de fresa *Fragaria vesca* con la mezcla de guano de isla y EM en el distrito de Marcara provincia de Carhuaz, 2016. Tesis Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo.
<http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/2661>.
- Menéndez, J. (2013). Agronomía Ecuatorial. Asturnatura.com. Núm. 154. ISSN 1887-5068. www.asturnatura.com/especie/fragaria-vesca.html.



- Mezei, M., M. Popović, L. Kovačev, N. Mrkovački, N. Nagl, y D. Malenčić. (1997). Effect of *Azotobacter* strains on sugar beet callus proliferation and nitrogen metabolism enzymes. *Biol. Plant.* Vol. 40:277-283. [Doi: 10.1023/A:1001028922433](https://doi.org/10.1023/A:1001028922433).
- MINAGRI, Ministerio de Agricultura y Riego del Perú. (2008). Estudio de la fresa en el Perú y el mundo. http://minagri.gob.pe/portal/download/pdf/herramientas/boletines/estudio_fresa.pdf.
- Mishustin E. y Shilnikova V. (1969). The Biological fixation of Atmospheric Nitrogen by Free-living Bacteria. *Soil Biology Reviews of Research*. UNESCO Belgium.
- Monib, M., Abd-el-Malek, Y., Hosny, I. y Fayez, M. (1979). Effect of *Azotobacter* inoculation on plant growth and soil nitrogen. *Zentralbl. Bakteriol. Naturwiss.* Vol. 134 (2): 140-148. [Doi:10.1016/S0323-6056\(79\)80040-3](https://doi.org/10.1016/S0323-6056(79)80040-3).
- Moreno, A., García, V., Reyes, J., Vásquez, J. y Cano, P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. XX(1):68-83. [Doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707](https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707).
- Nabiollahi, K., Golmohamadi, F., Taghizadeh, R., Kerry, R. y Davari, M. (2018). Assessing the effects of slope gradient and land use change on soil quality degradation through digital mapping of soil quality indices and soil loss rate. *Geoderma.* Vol. 318:16-28. [DOI: https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.12.024](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.12.024).
- Nagpal, P, Jafri S., Ready M. y Das H. (1989). Multiple chromosomes of *Azotobacter vinelandii*. *Journal of Bacteriology.* Vol. 171: 3133-3138.
- Obando, D., Burgos, L., Rivera, D., Rubiano, M., Divan, V. y Bonilla, R. (2010). Caracterización de bacterias diazotróficas asimbióticas asociadas al eucalipto (*Eucalyptus* sp.) en Codazzi, Cesar (Colombia). *Acta Biología Colombiana.* Vol. 15(3): 107-120.



- Ortega, M., Shagarodsky, T., Dibut, B., Ríos, Y., Tejeda, G. y Gómez, L. (2016). Influencia de la interacción entre el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y la inoculación con cepas seleccionadas de *Mesorhizobium* spp. *Cultivos Tropicales*. Vol. 37:20–7
- Ortiz, J., Delgadillo, J., Rodríguez, M. y Calderón, G. (2016). Inoculación bacteriana en el crecimiento y calidad del fruto de cinco variedades de fresa en suelos con pH contrastante. *Terra Latinoamericana*. Vol. 34: 177–185. <http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v34n2/2395-8030-tl-34-02-00177.pdf>.
- 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](https://doi.org/10.21930/rcta.vol11_num2_art:206).
- Pincay, G. (2020). Inoculantes bacterinos del género *Azotobacter* en la asociación del pasto *Andropogon gayanus* con *Clitoria ternatea* y Kudzu (*Pueraria phaseoloides*), Facultad de ciencias agrarias, Universidad técnica estatal de Quevedo, Ecuador.
- Prashar, P., N. Kapoor, y S. Sachdeva. (2014). Rhizosphere: Its structure, bacterial diversity and significance. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* Vol. 13:63-77. [Doi: 10.1007/s11157-013-9317-z](https://doi.org/10.1007/s11157-013-9317-z).
- Ramos, F. (1992). Genética de la regulación de la asimilación de nitrato en *Azotobacter vinelandii*. Sevilla, España.
- Rao, M., Kerridge, P. y Macedo, M. (1998). Requerimientos nutricionales y adaptación a los suelos ácidos de especies de *Brachiaria* (agronomía y mejoramiento CIAT. *Brachiaria: biología* (ed.); CIAT. *Brachiaria: Biología, Agronomía y mejoramiento*.
- Rodríguez, V. y Blanco, A. (2001). Eficiencia de *Azotobacter chroococcum* en la producción de posturas de *Coffea arabica*. II Taller sobre biofertilización en los trópicos. Habana, Cuba.



- Rojas, L. (2013). Potencial como promotoras del crecimiento de plantas de las especies de *Azotobacter* aisladas de rizósfera de malezas asociadas a *Zea mays* L. “maíz”, en Lambayeque, 2013. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Perú.
- Romero, F., Abril, J., Camelo, M., Moreno, A., Pastrana, I., Rojas, D. y Bonilla, R. (2017). *Azotobacter chroococcum* como biofertilizante bacteriano potencialmente útil para el algodón (*Gossypium hirsutum* L.): efecto en la reducción de la fertilización nitrogenada. *Rev Argent Microbiol.* Vol. 49: 377-383.
- Rueda, E., Ortega, J., Barrón, J., López, J., Murillo, B. y Hernández, L. (2015). Los fertilizantes biológicos en la agricultura. *INVURNUS.* Vol. 10: 10-17.
- Sahoo, R., Ansari, M., Dangar, T., Mohanty, S. y Tuteja, N. (2014). Phenotypic and molecular characterisation of efficient nitrogen-fixing *Azotobacter* strains from rice fields for crop improvement. *Protoplasma.* Vol. 251(3):511–23. [Doi: 10.1007/s00709-013-0547-2](https://doi.org/10.1007/s00709-013-0547-2).
- Sánchez, D., Pérez, J., Luna, L., García, J. y Espitia, A. (2019). *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum lipoferum* como bioestimulantes en cultivo de *Ipomoea batatas* Lam. *Rev. Agronomía Mesoamericana.* Vol. 30(2):563–576. <https://doi.org/10.15517/am.v30i2.33896>.
- Serret, M., Espinosa, D., Gómez, O. y Delgadillo, J. (2016). Tolerancia de plantas de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) premicorrizadas con *Rhizophagus intraradices* e inoculadas con PGPR's a *Phytophthora capsici*. *Rev. Agrocencia.* Vol. 50: 1107–1121. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952016000801107.
- Silva, L. y Zúñiga, G. (2017). Bacterias fijadoras de nitrógeno aisladas de *Asparagus officinalis* L. y su efecto en el desarrollo vegetativo de *Lycopersicon esculentum* Mill. “tomate”. Tesis de Licenciado en Biología Microbiología – Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Lambayeque – Perú. 130 p.



- Srivastava, K., Malhotra, K. y Kumar, K. (2015). Exploiting nutrient-microbe synergy in unlocking productivity potential of perennial fruits: A review. *Indian J Agric Sci.* Vol. 85: 459-481.
- Torriente, D. (2010). Aplicación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar. Perspectivas de su uso en Cuba. Revisión bibliográfica. *Revista Cultivos Tropicales.* Vol. 31(1): 19–26.
- Valery, A. y Reyes, I. (2013). Evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento bajo diferentes esquemas de fertilización en el cultivo de maíz variedad HIMECA-95. *Revista Colombiana de Biotecnología.* Vol. 15(2):81–8.
- Vessey, J. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil.* Vol. 255:571-586.
- Zavala, J. (2022). Determinación de parámetros físico – químicos para la producción de *Azotobacter* sp. nativa del departamento de San Martín – Perú. Tesis de Magíster en Biotecnología. Unidad de Posgrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú. 97 p.

ANEXOS

Tabla 5

Parámetros de pH y conductividad eléctrica de muestras de suelos procedentes de los distritos de Acora y Challabamba (n=3).

| Parámetros del suelo | Distritos | |
|---------------------------|------------------|------------------|
| | Acora | Challabamba |
| pH | 5.6 | 5.3 |
| Conductibilidad eléctrica | 126.7 μ S/cm | 112.3 μ S/cm |

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 6

*Prueba de análisis de varianza y de Tukey de los porcentajes de germinación de semillas de fresa (*Fragaria sp*) inoculadas con *Azotobacter sp*.*

| Variable | N | R ² | R ² | Aj | CV |
|---------------|----|----------------|----------------|-------|----|
| % GERMINACIÓN | 12 | 0.92 | 0.88 | 12.37 | |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------|---------|----|--------|-------|---------|
| Modelo | 1979.67 | 3 | 659.89 | 29.11 | 0.0001 |
| TRATAMIENTO | 1979.67 | 3 | 659.89 | 29.11 | 0.0001 |
| Error | 181.33 | 8 | 22.67 | | |
| Total | 2161.00 | 11 | | | |

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=12.44851

Error: 22.6667 gl: 8

| TRATAMIENTO | Medias | n | E.E. | |
|-----------------------|--------|---|------|---|
| Control | 20.00 | 3 | 2.75 | A |
| Azot.-Acora 0.5 McF | 36.67 | 3 | 2.75 | B |
| Azot.-Challab 0.5 McF | 41.33 | 3 | 2.75 | B |
| Azot.-Acora 1 McF | 56.00 | 3 | 2.75 | C |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 7

Prueba de análisis de varianza y de Tukey de IEI de la longitud de raíces de fresa

(Fragaria sp) pos inoculación con Azotobacter sp.

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
|--------------|----|----------------|-------------------|-------|
| IEI raíz (%) | 15 | 0.84 | 0.81 | 35.64 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|--------------------------|--------|----|--------|-------|---------|
| Modelo | 561.74 | 2 | 280.87 | 31.81 | <0.0001 |
| TRATAMIENTOS BACTERIANOS | 561.74 | 2 | 280.87 | 31.81 | <0.0001 |
| Error | 105.94 | 12 | 8.83 | | |
| Total | 667.68 | 14 | | | |

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=5.01347

Error: 8.8285 gl: 12

| TRATAMIENTOS BACTERIANOS | Medias | n | E.E. |
|--------------------------|--------|---|--------|
| Azot.-Challab 0.5 McF | 2.95 | 5 | 1.33 A |
| Azot.-Acora 1 McF | 5.16 | 5 | 1.33 A |
| Azot.-Acora 0.5 McF | 16.90 | 5 | 1.33 B |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 8

Prueba de análisis de varianza y de Tukey del IEI de la longitud de tallos de fresa

(Fragaria sp) pos inoculación con Azotobacter sp.

| Variable | N | R ² | Adj R ² | CV |
|------------|----|----------------|--------------------|-------|
| LONG TALLO | 15 | 0.77 | 0.73 | 20.88 |

Analysis of variance table (Partial SS)

| S.V. | SS | df | MS | F | p-value |
|--------------|---------|----|--------|-------|---------|
| Model | 1407.38 | 2 | 703.69 | 19.55 | 0.0002 |
| TRATAMIENTOS | 1407.38 | 2 | 703.69 | 19.55 | 0.0002 |
| Error | 431.93 | 12 | 35.99 | | |
| Total | 1839.31 | 14 | | | |

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=10.12303

Error: 35.9943 df: 12

| TRATAMIENTOS | Means | n | S.E. |
|------------------------|-------|---|--------|
| Azot.-Challab 0.50 McF | 17.01 | 5 | 2.68 A |
| Azot.-Acora 1.00 McF | 28.46 | 5 | 2.68 B |
| Azot.-Acora 0.50 McF | 40.73 | 5 | 2.68 C |

Means with a common letter are not significantly different ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 9

Prueba de análisis de varianza y de Tukey del IEI del peso plántulas de fresa (Fragaria sp) pos inoculación con Azotobacter sp.

| Variable | N | R ² | Adj R ² | CV |
|-------------|----|----------------|--------------------|-------|
| PESO PLANTA | 15 | 0.17 | 0.03 | 27.18 |

Analysis of variance table (Partial SS)

| S.V. | SS | df | MS | F | p-value |
|--------------|---------|----|-------|------|---------|
| Model | 192.86 | 2 | 96.43 | 1.24 | 0.3238 |
| TRATAMIENTOS | 192.86 | 2 | 96.43 | 1.24 | 0.3238 |
| Error | 932.77 | 12 | 77.73 | | |
| Total | 1125.63 | 14 | | | |

Test: Tukey Alpha:=0.05 LSD:=14.87611

Error: 77.7305 df: 12

| TRATAMIENTOS | Means | n | S.E. |
|------------------------|-------|---|--------|
| Azot.-Acora 1.00 McF | 27.42 | 5 | 3.94 A |
| Azot.-Challab 0.50 McF | 34.32 | 5 | 3.94 A |
| Azot.-Acora 0.50 McF | 35.58 | 5 | 3.94 A |

Means with a common letter are not significantly different ($p > 0.05$)

Fuente: Elaboración propia.

Miscelánea de fotografías de los procedimientos de la investigación

Figura 6

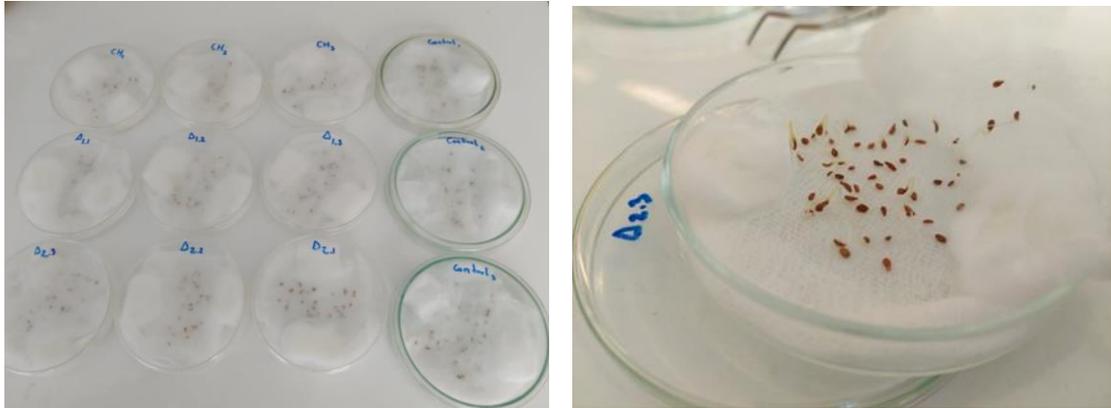
Inoculación de semillas de fresa con Azotobacter sp en concentraciones estándar 0.5 y 1.0 de McFarland.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 7

Resultados de los tratamientos con inoculaciones de Azotobacter sp y sus respectivos controles.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 8

Invernadero de fresas y toma de muestra en Challabamba - Cusco.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 9

Invernadero de fresas y toma de muestra de suelo en Acora – Puno.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 10

Zona de muestreo invernadero de Acora, Puno – Perú.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 11

Muestras de suelo colectadas de Acora y Challabamba y reactivos para el aislamiento de Azotobacter sp



Fuente: Elaboración propia.

Figura 12

Preparación de medios de cultivo para el aislamiento de Azotobacter sp.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 13

Esterilización y plaqueo de medios de cultivo para Azotobacter sp.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 14

Pesado de muestras de suelo, determinación del pH y diluciones de las muestras de suelo en agua destilada estéril.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 15

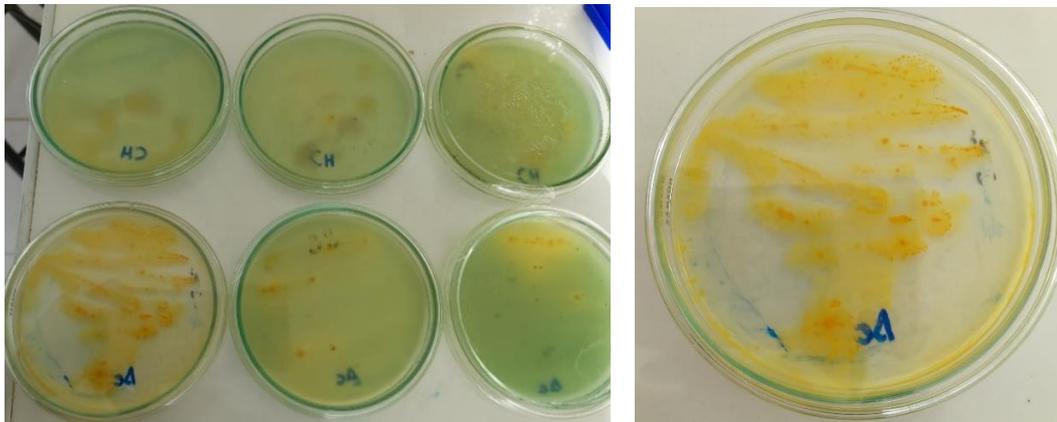
Cultivo por extensión de las diluciones de suelo e incubación en estufa a 28 °C.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 16

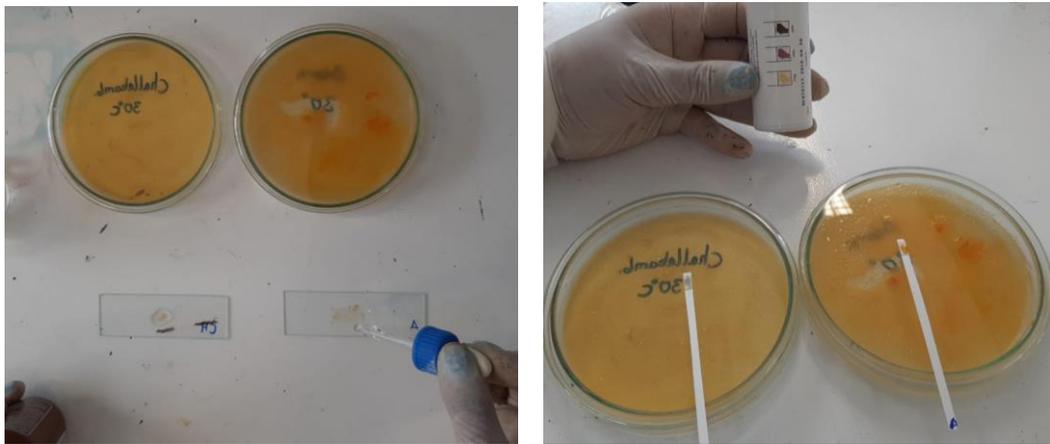
Resultados del aislamiento de Azotobacter sp a partir de suelos de Acora y Challabamba, luego de 4 a 5 días de cultivo



Fuente: Elaboración propia.

Figura 17

Pruebas de catalasa y oxidasa a las colonias de Azotobacter sp.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18

Obtención de concentraciones de Azotobacter sp según el estándar McFarland.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 19

Medición inicial de longitud (cm) de raíces y peso de plántulas de fresa.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 20

*raíces de plántulas de fresa en concentraciones de estándar 0.5 y 1.0 McFarland de
Azotobacter sp por un tiempo de 30 minutos*



Fuente: Elaboración propia.

Figura 21

Siembra de plántulas de fresa en arena e inoculación con soluciones nutritivas en invernadero.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 22

*Plántulas de fresa (*Fragaria sp*) en crecimiento pos inoculación con *Azotobacter sp*.*



Fuente: Elaboración propia.



Constancia de ejecución de tesis



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: 001-2022

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 **MABEL LUZA CCUNO**, egresado (a) de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, con Proveído N° 65-2021-D-FCCBB-UNA, ha realizado la parte experimental de su trabajo de investigación (Tesis) titulado: **EFECTO DE *Azotobacter* sp AISLADA DE DOS REGIONES DEL PERÚ EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE FRESA (*Fragaria* sp) 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 septiembre a noviembre del año 2021.

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

Puno, 10 de enero del 2022.



UNA
PUNO

Firmado digitalmente por LAURA
CHAUCA DE MEZA Eva FAU
20145498170 soft.
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 10.01.2022 08:51:40 -05:00

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



**AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE
INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL**

Por el presente documento, Yo Mabel Luza Ceuro,
identificado con DNI 48117951 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

De Biología

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

" Efecto de Azotobacter sp. en la germinación de semillas
y el crecimiento de plántulas de fresa (Fragaria sp) aislada
de los suelos de Challabamba (Cusco) y Awra (Puno) "

para la obtención de Grado, Título Profesional o Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los "Contenidos") que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

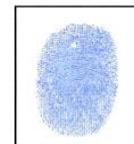
Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 02 de Abril del 20 24


FIRMA (obligatoria)



Huella



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Mabel Luga Curo
identificado con DNI 48177951 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado
de Biología

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

"Efecto de Agrobacter sp. en la germinación de semillas y el
crecimiento de plantulas de papa (friegarosa sp) aislada de tubos
de chollabamba (Cusco) y Areca (Puno)"

Es un tema original.

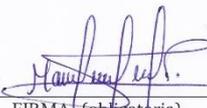
Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 02 de Abril del 2024


FIRMA (obligatoria)



Huella