

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



EFFECTOS DE CRECIMIENTO HASTA LA ETAPA DE  
BOTON FLORAL DE DOS VARIEDADES DE QUINUA  
(*Chenopodium quinoa*) UTILIZANDO BACTERIAS  
BIOFERTILIZANTES EN PARCELAS EXPERIMENTALES  
DEL INIA  
TESIS

**PRESENTADA POR:**

**Bach. CARMEN FIORELA URVIOLA ARAGÓN**

**Bach. LUIS JAVIER ORDOÑEZ ABARCA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PUNO – PERÚ**

**2020**

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

EFFECTOS DE CRECIMIENTO HASTA LA ETAPA DE BOTON  
FLORAL DE DOS VARIEDADES DE QUINUA (*Chenopodium  
quinoa*) UTILIZANDO BACTERIAS BIOFERTILIZANTES EN  
PARCELAS EXPERIMENTALES DEL INIA

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. CARMEN FIORELA URVIOLA ARAGÓN

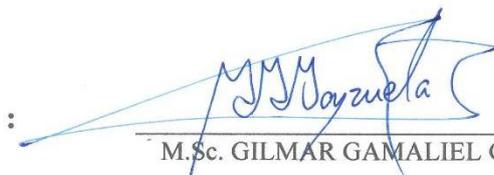
Bach. LUIS JAVIER ORDOÑEZ ABARCA

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADA POR:

PRESIDENTE



M.Sc. GILMAR GAMALIEL GOYZUETA CAMACHO

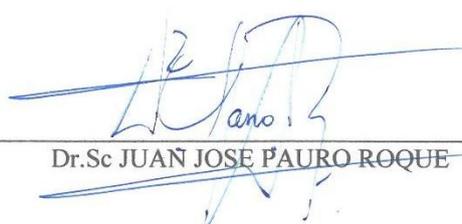
PRIMER MIEMBRO :

Dr.Sc. CHOQUEHUANCA PANCLAS DANTE JONI

SEGUNDO MIEMBRO:

  
Mg. MARTHA ELIZABETH APARICIO SAVEDRA

DIRECTOR / ASESOR:

  
Dr.Sc JUAN JOSE PAURO ROQUE

ÁREA : Ciencias biomédicas

TEMA : Biotecnología microbiana

Fecha de sustentación: 10/01/2020

**DEDICATORIA**

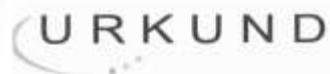
A Dios, principalmente por brindarme salud, vida y esperanza para lograr mis objetivos, por darme sabiduría paciencia y fortaleza.

Esta tesis está dedicada a nuestros padres y hermanos que nos brindaron el apoyo y siempre estuvieron a nuestro lado durante el desarrollo de este trabajo.

A mis docentes que me inculcaron sus enseñanzas y nos ayudaron a desarrollar este trabajo de investigación.

## AGRADECIMIENTO

- Quiero expresar mi gratitud a Dios por habernos permitido llegar a este momento y por su abnegado amor
- A la Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología, por darnos la oportunidad de estudiar una carrera profesional
- A todos los docentes de la Escuela Profesional de Biología, por sus conocimientos impartidos durante mi formación académica.
- A nuestro director de tesis Dr. Juan Jose Pauro Roque, por la paciencia, sus enseñanzas y compartir sus conocimientos con nosotros.
- Al Instituto de Innovación Agraria por acogernos en sus instalaciones y poder desarrollar nuestro trabajo de investigación.
- Al Ing. Jesus H. Arcos Pineda e Ing. Wilfredo Barreda por apoyarnos y brindarnos el apoyo necesario a lo largo de nuestra estancia.
- En especial a mis padres y familiares quienes siempre me apoyaron con sus consejos, en todas las etapas de nuestras vidas, porque siempre están dándonos ánimo y sobre todo por ser nuestra fortaleza; gracias a su inmenso paciencia y comprensión, gracias por todo lo que nos brindan día a día.



## Urkund Analysis Result

Analysed Document: Tesis Fiorella Urviola y Luis Ordoñez.pdf (D62292548)  
Submitted: 1/13/2020 4:27:00 PM  
Submitted By: acanales@unap.edu.pe  
Significance: 2 %

### Sources included in the report:

TESIS BIOL TANIA rev sin REF BIBLIOG 2 urk.docx (D60335044)  
TESIS DE ESQUIBEL ORRALA.docx (D15566589)  
TESIS BIOL GUSTAVO ultimo corregido imrimir.pdf (D61739810)  
<https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis404.pdf>  
<https://docplayer.es/amp/74571219-Padilla-sanchez-monica.html>  
<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8628/tesis588.pdf?sequence=1&isAllowed=y>  
<https://revistas.unisucre.edu.co/index.php/recia/article/download/391/432/>

### Instances where selected sources appear:

12

**ÍNDICE GENERAL**

ÍNDICE DE FIGURAS .....	8
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS .....	11
RESUMEN.....	12
ABSTRACT .....	13
I. INTRODUCCION .....	14
1.1. Objetivo General.....	16
1.2 Objetivos Específicos.....	16
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	17
2.1 Antecedentes.....	17
2.2 Marco Teórico.....	20
2.2.1 La quinua .....	20
2.2.2 Clasificación taxonómica .....	20
2.2.3 Variedad Pasankalla o quinua roja.....	20
2.2. 4. Variedad INIA Salcedo .....	21
2.2.5 Zonas de cultivo .....	22
2.2.6 Estacionalidad de la quinua peruana .....	22
2.2 8 Bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV).....	24
2.2.9 Tipos de BPCV .....	26
2.2.10 <i>Bacillus subtilis</i> .....	27
2.2.11 <i>Azotobacter spp.</i> .....	29
2.2.12 <i>Pseudomonas spp</i> .....	30
2.2.13 Nitrógeno .....	32
2.2.14 Fosforo.....	34
2.2.15 Potasio .....	36
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
3.1. Zona de estudio .....	39
3.2 Tipo y nivel de investigación.....	40
3.3 Método.....	40
3.3.1. Identificación de bacterias biofertilizantes (solubilizadoras de fosfato y potasio y fijadoras de nitrógeno) en suelos de INIA Salcedo y Camicachi del distrito de Ilave – Puno.....	40
3.3.2, Cuantificación de bacterias solubilizadoras de fosfatos y potasio y fijadoras de nitrógeno en suelos de INIA salcedo e Ilave Camicachi del distrito de puno.....	52

3.3.3 Evaluar el efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio y fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad INIA SALCEDO en parcelas experimentales del INIA Salcedo del distrito de Puno. ....	55
3.3.4. Evaluar el efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio y fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad quinua roja o Pasankalla en parcelas experimentales del INIA Salcedo del distrito de Puno, .....	59
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	61
4. 1 Identificación bioquímica de bacterias biofertilizantes (solubilizadoras de fosfato y potasio y fijadoras de nitrógeno) en suelos de INIA Salcedo y Camicachi del distrito de Ilave .....	61
4.2 Cuantificación de bacterias solubilizadoras de fosfatos y potasio y fijadoras de nitrógeno en suelos de INIA salcedo y Camicachi del distrito de Ilave .....	64
4.3 Efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio y fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad INIA Salcedo en parcelas experimentales del INIA Salcedo del distrito de Puno. ....	65
4.3.1 Altura de la planta (cm) .....	65
4.3.2 Raíz (cm) .....	67
4.3.3 Número de hojas .....	68
4.3.4 Diámetro del Tallo (cm) .....	69
4.4 Efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio y fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad Pasankalla (quinua roja) en parcelas experimentales del INIA Salcedo del distrito de Puno. ....	70
4.4.1 Altura de la planta (cm) .....	70
4.4.2 Raíz (cm) .....	72
4.4.3 Número de hojas .....	73
4.4.4 Diámetro del tallo .....	74
V. CONCLUSIONES .....	77
VI. RECOMENDACIONES .....	78
VII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA.....	79

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fenología de la quinua variedad Pasankalla, (INIA, 2013).....	21
Figura 2. Fenología de la variedad Salcedo INIA, (INIA, 2013).....	22
Figura 3. Mecanismos de control biológico de enfermedades en plantas por bacterias. (a) Antibiosis, (b) La Resistencia Sistémica Inducida (ISR) y (c) Competencia. (Lugtenberg & Kamilova, 2009).....	26
Figura 4. Toma satelital de lugares de toma de muestras Camicachi - Ilave e INIA Salcedo – Puno, enero 2019 .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 5. Equipo meteorológico Vantage pro 2, ubicado en parcelas de INIA salcedo, (enero - abril 2019) .....	40
Figura 6. Tipos de muestreo de suelos, (Lozano, 2014).....	41
Figura 7. (a) y (b) obtención de muestra de suelo Camicachi e Inía Salcedo (diciembre 2018).....	41
Figura 8. transporte de muestras de suelo, (a) muestra de suelo de la estación experimental salcedo (b) recolección de muestra de suelo de Camicachi Ilave; (diciembre 2018) ...	42
Figura 9. Cultivos en medio de libre de nitrógeno, laboratorio Inía Salcedo, (enero 2019).....	43
Figura 10. Aislamiento de cepas de Bacillus, laboratorio INIA, (enero 2019).....	44
Figura 11. Aislamiento de pseudomonas, laboratorio INIA, (enero 2019) .....	44
Figura 12. Método de tinción Gram, realizado para cada uno de los cultivos. Laboratorio Inía, (enero 2019).....	45
Figura 13. capturas de imágenes en microscopio de las cepas sospechosas (a) bacilos positivos con endosporas característico de Pseudomonas, (b) bacilos positivos característicos de Bacillus (c) cocos característicos de Azotobacter; laboratorio INIA, (enero 2019.).....	46
Figura 14. Prueba de oxidasa, (a) prueba oxidasa marca Bactident® Oxidasa 113300 - Merck Millipore (b) prueba para Pseudomona resultando positivo (c) prueba positiva para Bacillus (d) prueba positiva para Azotobacter. laboratorio INIA, (enero 2019).....	47
Figura 15. prueba de catalasa (a) Bacillus (b) Azotobacter (c) Pseudomonas, laboratorio INIA (enero 2019).....	47
Figura 16. prueba de citrato, laboratorio INIA, (enero 2019).....	48
Figura 17. prueba de gelatina (a) y (b), laboratorio INIA, (enero 2019).....	48
Figura 18. prueba SIM, laboratorio INIA, (enero 2019).....	49
Figura 19. prueba de INDOL (a) y (b). laboratorio INIA, (enero 2019).....	50
Figura 20. Prueba de movilidad, laboratorio INIA, (enero 2019).....	50
Figura 21. Prueba de degradación de almidón, laboratorio Inía, (enero 2019).....	51
Figura 22. Prueba de fluorescencia para los cultivos de bacterias, laboratorio Inía, (enero 2019).....	51
Figura 23. Diluciones seriadas de muestras de suelo para cultivo y posterior recuento, (Pérez, t al, 2014).....	53
Figura 24. Dilución de muestras de suelo. Laboratorio INIA, (enero 2019).....	54
Figura 25. Preparación del suelo (a) antes de preparado (b) después de preparado, parcelas INIA Salcedo, enero 2019.....	55
Figura 26. Preparación del inóculo a partir de las cepas ya aisladas e identificadas medidas por MACFARLAND (a) <i>Bacillus subtilis</i> (b) <i>Azotobacter spp</i> (c) <i>Pseudomonas florescens</i> (e) MACFARLAND (d) solución de bacterias. Laboratorio INIA, (enero 2019).....	56
Figura 27. Aplicación de inóculo de solución bacteriana a semillas de quinua (a) melaza (b) adición de melaza a semillas de quinua (c) adición de semillas con melaza a solución de bacterias (d) extendido de semillas, laboratorio INIA, enero 2019..	57
Figura 28. siembra de las semillas inoculadas, parcelas Inia Salcedo, (enero 2019).....	58

Figura 29. Esquema de siembra de semillas inoculadas, esquema elaboración propia, (enero 2019).....	58
Figura 30. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en altura de la quinua variedad Salcedo INIA. Histograma estadístico elaborado en Infostat, (octubre 2019).....	66
Figura 31. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la raíz de la quinua variedad Salcedo INIA. Histograma estadístico elaborado en Infostat, (octubre 2019).....	67
Figura 32. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el número de hojas de la quinua variedad Salcedo INIA. Histograma estadístico elaborado en infostat, (octubre 2019).....	68
Figura 33. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el diámetro del tallo de la quinua variedad Salcedo INIA. Histograma estadístico elaborado en infostat, (octubre 2019).....	69
Figura 34. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en altura de la quinua variedad Pasankalla. Histograma estadístico elaborado en infostat, Octubre 2019 .....	71
Figura 35. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la raíz de la quinua variedad Pasankalla. Histograma estadístico elaborado en Infostat, (octubre 2019). ..	72
Figura 36. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el número de hojas de la quinua variedad Pasankalla. Histograma estadístico elaborado en infostat, (octubre 2019).....	73
Figura 37. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el diámetro del tallo de la quinua variedad Pasankalla. Histograma estadístico elaborado en infostat, (octubre 2019).....	74
Figura 38. semillas germinando a las 48h de ser plantadas (a) y (c) semillas de la variedad INIA salcedo (b) y (d) semillas de la variedad Pasankalla, parcelas Inia Salcedo, (enero 2019).....	87
Figura 39. plántulas de quinua a las 96h, a la derecha (a) y (c) variedad Pasankalla, a la izquierda (b) y (d) variedad INIA salcedo, parcelas Inia Salcedo, (febrero 2019). .....	88
Figura 40. plantulas de quinua con 4 hojas verdaderas (a), (b), (c) y (d) variedad Pasakalla (e), (f), (g) y (h) variedad INIA salcedo, parcelas Inia Salcedo, (febrero 2019).....	90
Figura 41. Plantas de quinua desde la etapa de ramificación hasta el botón floral a los días, parcelas Inia Salcedo, (marzo 2019). .....	93
Figura 42. biometría con un vernier de los tallos, raíces y diámetro del tallo (este procedimiento se realizó para todas las muestras seleccionadas), laboratorio UNAP (marzo 2019).....	92
Figura 43. semillas certificadas utilizadas para realizar este trabajo de Figura 43. semillas certificadas utilizadas para realizar este trabajo de investigación (a) y (c) variedad Pasankalla (b) y (d) variedad INIA salcedo.....	93

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 La cosecha de quinua promedio por año (Tello, 2009 y Montero 2017).....	23
Tabla 2 Mecanismos de acción directa de las BPCV (Sarabia et al,2010).....	25
Tabla 3 caracterización de suelos INIA Salcedo y Camicachi, elaboración propia, (enero 2019).....	42
Tabla 4. Pruebas bioquímicas hechas para la identificación de las especies bacterianas promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), elaboración propia, febrero 2018. ....	61
Tabla 5 Recuento de bacterias de los suelos de INIA Salcedo y Camicachi - Ilave, realizado en el laboratorio de biotecnología UNA - Puno. tabla de elaboración propia, (octubre 2019).....	64

## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

PGPR: Plant growth promoting rhizobacteria, o rizobacteria promotora del crecimiento vegetal

INIA: Instituto Nacional de Innovación Agraria

BPCV: bacterias promotoras del crecimiento vegetal

ISR: La Resistencia Sistémica Inducida

DIAIA: subdirección de inocuidad agroalimentaria

## RESUMEN

Las bacterias del suelo poseen bondades biofertilizantes de solubilización de potasio, fosforo y fijación de nitrógeno. El estudio se desarrolló en el laboratorio de micro propagación del Instituto Nacional de Innovación Agraria de la ciudad de Puno. Objetivo: Identificar bacterias solubilizadoras de fosfato, potasio y fijadoras de nitrógeno en suelos de INIA Salcedo y Camicachi en Ilave del distrito de Puno, Cuantificar bacterias solubilizadoras de fosfatos, potasio y fijadoras de nitrógeno, Evaluar el efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio, fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad INIA Salcedo y en la variedad quinua roja en parcelas demostrativas del INIA Salcedo del distrito de Puno. Método: que consistió en recolectar 3 muestras de suelo de una parcela en Camicachi - Ilave y 3 muestras de las parcelas del Instituto Nacional de Innovación Agraria. la colecta se realizó de manera aleatoria, se aisló las bacterias solubilizadoras de fosfatos, potasio y fijadoras de nitrógeno en cultivos de agar libre de nitrógeno con azul de bromotimol y agar nutritivo para *Bacillus* y *Pseudomonas* según correspondía, la identificación se realizó mediante pruebas bioquímicos. Se comprobaron dichas capacidades mediante las técnicas de cultivo en agar y distinción de halos, después de las muestras obteniéndose pasara a la inoculación que se realizó en 6 tratamientos, 3 control (sin inóculo) de bacterias y 3 con inóculo de bacterias 5 repeticiones de cada uno y 3 réplicas de las repeticiones , 300 unidades experimentales en total, Resultados se trabajaron con un nivel de confianza del 95% con el análisis estadístico de Anova y prueba T, obteniendo el mejoramiento del crecimiento de las plantaciones de quinua inoculadas con los microorganismos aislados en la variedad INIA Salcedo en un 133.85% de efectividad en cuanto a la altura, 38.24% de efectividad en la raíz, 130.66% de efectividad en el número de hojas y 133.33% de efectividad en el diámetro del tallo. Obteniendo así una diferencia estadísticamente significativa frente a un control que no poseía ningún tipo de inóculo en cuanto a la variedad Pasankalla (quinua roja) se obtuvo un 83.16% de efectividad en cuanto a la altura, 26.45% de efectividad en la raíz, 58.35% de efectividad en el número de hojas y 68.18% de efectividad en el diámetro del tallo. Obteniendo así una diferencia estadísticamente significativa frente a un control que no poseía ningún tipo de inóculo. **Conclusión:** la inoculación de cepas promotoras de crecimiento, es una alternativa orgánica y sostenible, se pudo demostrar el potencial que estos tienen como fertilizantes orgánicos para contribuir a la productividad y desarrollo de plantaciones de quinua.

**Palabras Clave:** *Bacillus*, bacterias, biofertilizantes, campos, efecto, quinua, variedades.

## ABSTRACT

Soil bacteria possess biofertilizing benefits of potassium solubilization, phosphorus and nitrogen fixation. The study will be carried out in a micro propagation laboratory of the National Institute of Agrarian Innovation in the city of Puno. The objectives were: Identify biofertilizing bacteria (phosphate and potassium solubilizers and nitrogen fixers) in INIA Salcedo and Camicachi soils in Ilave district of Puno, Quantify phosphate, potassium and nitrogen fixing solubilizing bacteria, Evaluate the effect of inoculation of potassium and phosphorus solubilizing bacteria and nitrogen fixers on the growth of quinoa seedlings up to the floral button stage in the INIA Salcedo variety and in the red quinoa variety in demonstration plots of the INIA Salcedo of the Puno district. The method consisted of collecting 3 soil samples from a plot in Camicachi - Ilave and 3 samples from the plots of the same INIA institution, the collection was carried out randomly, the phosphate solubilizing bacteria, potassium and nitrogen fixing were isolated in Nitrogen-free agar cultures with bromothymol blue and nutrient agar for *Bacillus* and *Pseudomonas* as appropriate, the identification was made by biochemical tests. Said capacities will be checked by agar culture and halos distinction techniques, after the samples being obtained will be passed to the inoculation that was carried out in 6 treatments, 3 control (without inoculum) of bacteria and 3 with inoculum of bacteria 5 repetitions of each one and 3 replications of the repetitions, 300 experimental units in total, the results were worked with a level of confidence of 95% with the statistical analysis of Anova and T test, obtaining the improvement of the growth of the quinoa plantations inoculated with the microorganisms isolated in the INIA Salcedo variety in 133.85% height effectiveness, 38.24% root effectiveness, 130.66% effective in the number of leaves and 133.33% effective in stem diameter. Obtaining a statistically significant difference compared to a control that did not have any type of inoculum regarding the PASANKALLA variety (red quinoa), an 83.16% effectiveness in terms of height was obtained, 26.45% effective at the root, 58.35% of effectiveness in the number of leaves and 68.18% of effectiveness in the diameter of the stem. Thus obtaining a statistically significant difference against a control that did not possess any type of inoculum. The conclusion reached is that the inoculation of growth promoting strains, is an organic and sustainable alternative, it was possible to demonstrate the potential that these have as organic fertilizers to contribute to the productivity and development of quinoa plantations.

**Keywords:** bacteria, *Bacillus*, biofertilizers, effect, field, quinoa, varieties.

## I. INTRODUCCION

El uso excesivo de pesticidas y fertilizantes químicos en la agricultura moderna ha dado lugar al deterioro en la fertilidad de los suelos y a la aparición de formas de resistencia de los microorganismos fitopatógenos en todo el mundo. En la región de Puno a pesar que hasta el 2014 según estadística (INEI 2011) El problema se halla en los componentes químicos y otros contaminantes que puedan contener los cultivos y como afectan a la producción de quinua. Según el del monitoreo de residuos químicos y otros contaminantes en granos de quinua (*Chenopodium quinoa*) emitido por (SENASA 2014) y la subdirección de inocuidad agroalimentaria/DIAIA mencionan que Según los Límites Máximos de Residuos (LMR) aprobados por el Codex alimentarios. La región de la Sierra registró el 40.63% de muestras no conformes por residuos químicos. Junín reporta el 80% de muestras de no conformes; seguido de Huancavelica con 60%, Cusco y Puno con 40% y como los más bajos Apurímac y Ayacucho con el 20% de muestras no conformes.

Para hacer frente a estos problemas, productos de origen microbiano y fertilizantes orgánicos son una alternativa limpia en el control fitosanitario, SENASA resalta valor que otorga producción orgánica al cultivo de quinua. Productos orgánicos, son manufacturas de origen vegetal, animal o cualquiera de sus derivados, en cuya preparación o procesamiento no se han realizado el uso de fertilizantes, plaguicidas químicos, cuenta con un certificado emitido por un organismo de certificación (certificadora) de productos orgánicos autorizado y registrado por el (SENASA 2018),

Un agente de biocontrol es el *Bacillus subtilis*, bacteria Gram positiva que produce una gran cantidad de lipopeptidos, metabolitos primarios o secundarios, con amplio espectro antibiótico. Dichos metabolitos son supresores efectivos de algunos patógenos de plantas incluyendo; especies de *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Septoria*, y *Verticillium*. (Ariza & Sánchez, 2012) .

Ahora está bien establecido que muchos de estos efectos se logran promoviendo los procesos microbiológicos naturales que mantienen a las enfermedades de las plantas bajo control por ejemplo *Pseudomonas spp.* producen antibióticos específicos se han asociado de manera convincente con la supresión del suelo. esta evidencia genera un entusiasmo aun mayor por el potencial de estas bacterias como agentes de control biológico. Por otro lado, el *Azospirillum* es una bacteria promotora de crecimiento vegetal (PGPR) de viuda libre, capaz de ayudar al crecimiento y producción de numerosas especies vegetales; que

tiene la habilidad de producir fitohormonas que mejoran el crecimiento radicular; absorción de agua y minerales presentes a lo largo de la producción del cultivo, y en muchos casos en la mayor producción de plantas. Los extensos estudios genéticos, bioquímicos y de aplicaciones, han demostrado que *Azospirillum*, es uno de los mejores PGPR's

El fósforo, el nitrógeno, el hierro y el potasio son algunos compuestos necesarios para el crecimiento y desarrollo vegetal. Los fertilizantes químicos empleados para aumentar su concentración afectan significativamente el medioambiente y los ecosistemas del suelo. De acuerdo con la literatura científica, los microorganismos con potencial biofertilizante han demostrado poseer diversos mecanismos de acción para solubilizar estos compuestos y así cumplir con los requerimientos de las plantas. (Restrepo, Correa, et al, 2017) por lo cual se entiende que estas bacterias bio controladoras actúan también como promotoras del crecimiento en las plantas por medio de los micronutrientes que proveen a estas.

En estudio realizar se tratará de impulsar a una planta de interés social e industrial como es la quinua (*Chenopodium quinoa*), esta es una de las especies más cultivadas en el Perú hace muchos años. En nuestra región Puno es bien sabido que la cuenca del Lago Titicaca es la zona considerada como el principal centro de origen de la quinua y el centro de conservación de la mayor diversidad biológica de esta especie, en la cual existen sistemas variados e innovadores de cultivo y una cultura alimentaria que genera el grano a la digestión diaria (MINAGRI,2017). Además, La quinua, especialmente en Puno, está perdiendo interés en mercados extranjeros como Estados Unidos. En junio de 2015, los empresarios norteamericanos devolvieron a nuestro país nada menos que 200 toneladas de este producto por no cumplir con los estándares internacionales. El motivo es uso de pesticidas o agroquímicos en el cultivo de la planta. Por esta razón, EE.UU. colocó el rótulo de “rechazado” al grano peruano (Diario correo, 2015). Esto debido a la aplicación, cada vez mayor, de fertilizantes químicos, con graves consecuencias en cuanto a salud y calidad del suelo. En forma general, los agricultores no tratan al suelo como un ecosistema con todas las interacciones que esto implica, sino únicamente se lo ve como el medio de cultivo para las plantas (Burbano, 2016)

### 1.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de las bacterias biofertilizantes en el crecimiento de las dos variedades de quinua (*Chenopodium quinoa*) hasta la etapa de botón floral en parcela experimentales del INIA.

### 1.2 Objetivos Específicos

-Identificar bacterias solubilizadoras de fosfato, potasio y fijadoras de nitrógeno en suelos de INIA Salcedo y Camicachi del distrito de Ilave

-Cuantificar bacterias solubilizadoras de fosfatos, potasio y fijadoras de nitrógeno en suelos de INIA Salcedo y Camicachi del distrito de Ilave

-Evaluar el efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio, fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad INIA SALCEDO en parcelas experimentales del INIA Salcedo del distrito de Puno.

-Evaluar el efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio, fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad Pasankalla o quinua roja en parcelas experimentales del INIA Salcedo del distrito de Puno.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Antecedentes

En el trabajo titulado bacterias solubilizadoras de fosfato del género *Bacillus* en suelos de la provincia del Collao y su efecto en la germinación y crecimiento de quinua, que se realizó en condiciones de invernadero, obtuvo como resultado que tuvieron variación estadística, es decir existió diferencia estadística significativa con respecto a los demás tratamientos que contenían poca inoculación de bacterias y el tratamiento control que no presentaba inoculación de bacterias. En la estimación de los parámetros biométricos en la longitud de la planta, diámetro del tallo y peso seco de la planta y raíz, no hubo diferencia estadística entre T1, T2 y T3, aunque si respecto al control que no posee inoculación de bacterias. (Llanos, 2017),

Según (Álvarez, 2015) los géneros *Bacillus* sp. *Pseudomonas* sp y *Azotobacter* sp entre otros presentan propiedades proteolíticas además de solubilizar el fosfato orgánico e inorgánico dependiendo de la especie, para la especie *Bacillua subtilis* (Calvo y Zuñiga, 2010) afirman que este se encuentra de manera muy sencilla en los cultivos de papa, y también demuestra una gran cantidad de microorganismos que se da con las diferentes capacidades de crecimiento, tanto a temperaturas bajas como a pH ácidos, todo esto hace que estos microorganismos sean promotores de crecimiento vegetal.

La forma de identificar a estos microorganismos es muy variada y entre estos métodos se encuentra el bioquímico del cual (Caviedes y Zapata, 2010) elabora un test bioquímico para el género *Bacillus* y *Pseudomonas* al igual que (Cuervo, 2010), menciona que es la prueba de la gelatinasa la que diferencia a *Pseudomona fluorensceus* de *Pseudomona putida*, mediante la presencia de la enzima proteolítica (gelatinasa); donde *P. fluorensceus* produce la licuefacción de la gelatina. Así como estos existen otros tipos de test de identificación como lo menciona (Corrales et al. 2014) y en algunos casos un batería de pruebas bioquímicas que ayudan a identificar una especie con una increíble exactitud como lo menciona (Escobar et al. 2011) y (Flores et al. 2012).

(Calvo, et al, 2008) explican que, dada su importancia, el componente microbiano del suelo es imprescindible para la salud de los ecosistemas. Las técnicas agrícolas, y también la realización de los recursos vegetales incurren sobre este dando efecto a su biodiversidad como a la densidad de las poblaciones microbianas implicadas, sin embargo (Cary & Angulo, 2006) en su trabajo mencionan que la tendencia al incremento que presentan diversos factores del suelo después de más de 10 años de descanso podría contribuir y explicar la recuperación de la fertilidad, por lo que la sobre explotación de los recursos del suelo no debería de suceder.

A pesar de la contaminación de los suelos y su sobre explotación existen formas de contrarrestar el malestar y tener una forma de promover el crecimiento de cultivos de una forma sostenible tal como lo menciona (Lara & Álvarez 2013), (Lara & Esquivel 2011), (Lara & Sanes 2013) y (Moreno et al. 2018), se debe de entender que las BPCV representan una gran alternativa para la sustitución parcial de fertilización química con buenos resultados para el crecimiento de las plantas de pastos Angleton, a bajo costo y de forma amigable con el ambiente para una producción más limpia es lo que menciona (Lara y Negrete 2015), por otro lado (Loredo, et al 2004) presume que la colonización de la raíz por BPCV está relacionada con una mayor disponibilidad de carbono y humedad en la rizosfera. De todos estos, los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Azotobacter* son las comunes en el microbiota del suelo tal como lo menciona , (Criollo, et al, 2013)

(Flores, 2009), en su trabajo de investigación Efecto de la interacción entre microorganismos PGPR con hongos formadores de micorrizas arbusculares para la promoción de crecimiento vegetal en aguaymanto (*Physalis peruviana*) obtuvo el crecimiento de plantas de aguaymanto en tales plantaciones se aplicaron inoculantes microbianos, estas fueron escogidas por presentar buena capacidad, así como un efecto muy bueno en la formación y desarrollo de plántulas en el laboratorio. Los microorganismos son potencialmente beneficiosos para el desarrollo de las plantas, ayudando significativamente el desarrollo vegetal.

Al igual que (Ruiz, 2002), en su trabajo variedad microbiana obtuvo que los microorganismos son la base de la humanidad, tienen un papel muy importante por medio de varias fases que favorecen al humano, plantas y animales.

Por otro lado, menciona en el trabajo Efecto de compost inoculado con bacterias de los géneros *Azotobacter* y *Novosphingobium* fijadoras de Nitrógeno en el rendimiento del olivo (*Olea europea L*), que existió gran variedad entre la utilidad siendo el mejor la fertilización química, igualmente se halló que el que obtuvo más niveles de nitrógeno en suelo y mayores calibres (Bedoya y Torreblanca 2015).

Y sin embargo (Quenaya 2012), en su investigación Influencia de la biofertilización con *Azotobacter chroococcum* en la reproducción y calidad de cebolla rosada (*Allium cepa L.*) obtuvo que usando bacterias fijadoras del nitrógeno como *Azotobacter* simboliza una gran opción al uso de fertilizantes acostumbrados. Se determinó que las concentraciones de *A. chroococcum*, permitieron obtener un mayor incremento en la producción de la cebolla rosada y las concentraciones *A. chroococcum* evaluando la productividad y calidad de la cebolla.

(Farfán, 2017) en su trabajo Microorganismos promisorios fijadores de nitrógeno, movilizadores de fosforo y potasio para la formulación de un bioensayo de uso agrícola aisló bacterias nativas no patógenas de los suelos de cultivo con aptitud fijadora de nitrógeno N, y movilizadora de

fósforo P y potasio K; midiendo las concentraciones de estas mismas en los suelos inoculados por dos meses. Para determinar estadísticamente la fijación y movilización de los nutrientes a los suelos por parte de las bacterias.

También (Torriente, 2010), en su trabajo aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar consiguió que el uso de Biofertilizantes establece una opción para aumentar la realización de cultivos actual, con el menor daño al ambiente. Esta investigación destaca el interés de incluir bacterias promotoras de crecimiento como biofertilizantes orgánicos en la realización de cultivos de caña de azúcar, viendo los resultados muy significativos.

“biofertilizante de microorganismos: bacterias diazótrofes aisladas de muestras de suelo rizosférico” es una investigación en la que (Moreno y Galvis, 2013), obtuvo que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal son capaces de habituarse, desarrollarse y mantenerse en la rizosfera de la planta, lo cual beneficia al aumento de su tamaño y su desarrollo. Por lo tanto, nos lleva a inferir que estas cepas pueden ser utilizadas en un potencial biofertilizante.

Al igual que (Rodriguez y Hernandez, 2009), en su trabajo aislamiento y selección de *Pseudomonas sp.*, y *Bacillus sp.*, promotoras del crecimiento vegetal en cultivo de uchuva (*physalis peruviana l.*) con actividad antagónica frente a *Fusarium oxysporum*” nos dice que los 20 aislamientos que se realizaron en su trabajo de investigación se aumentó el porcentaje de germinación de las semillas de uchuva sin embargo solo 18 aislamientos aumentaron la longitud de la raíz y el tallo de las plántulas de uchuva en diferencia con la planta control. La solubilización del fosfato se localizó en el género *Pseudomonas* sí, se escogieron varias cepas para la inoculación ya que se comprobó su capacidad promotora en la germinación de semillas y aumento de tamaño de las plántulas de uchuva.

(Ramos y Velázquez, 2015), en su investigación Beneficios de microorganismos solubilizadores de P y K en la recuperación y mantenimiento de suelos agrícolas Los resultados obtenidos concuerdan con estudios previos, en los cuales se ha demostrado existe un gran número de microorganismos con capacidad solubilizadora de fósforo, incluyendo bacterias, hongos, actinomicetos e incluso algas.

(Sharma, *et al*, 2013), Además de *Bacillus* y *Pseudomonas*, dijo que se han reportado otras bacterias y hongos que no pierden su capacidad solubilizadora al transferirlos repetidamente de un medio de cultivo a otro.

(Corrales *et al*, 2014), en su trabajo de investigación *Bacillus*: género bacteriano que demuestra ser un importante solubilizadoras de fosfato determino que el 93.33% de las muestras de raíces y

suelo Inoculación de *Azotobacter spp.* Adherido de hortalizas resultó positivo para el enriquecimiento de bacterias fijadoras de nitrógeno

Así mismo, el 81.67 % de las muestras resultó positivo para el aislamiento de *Azotobacter spp.* incremento en la altura, volumen radicular y peso de la biomasa seca total, parte aérea y radicular (Escobar *et al*, 2012).

## 2.2 Marco Teórico

### 2.2.1 La quinua

La quinua es una planta domesticada por las sociedades prehispanicas la cual se utilizado en la alimentación por lo menos desde hace 3000 años atrás, (Rivera1995). Por sus características esta es una planta pertenece a la familia Chenopodiaceas, su tamaño varía desde 1m a 3.5m según el ecotipo y variedad, su tallo primario es recto, también se puede ver unas ramas paralelas normales para los países altoandinos en los cuales el ecotipo que se ha dado es muy marcado tal como lo menciona (Tapia *et.al*; 1979) a continuación (Rivera 1995) describe que sus raíces son más o menos profundas pudiendo llegar desde 0.50 m. hasta más de 2 m. Posee una inflorescencia, de forma glomerulada, Esta inflorescencia puede alcanzar hasta 0.70 m. de su tamaño y densidad depende en gran parte su rendimiento.

### 2.2.2 Clasificación taxonómica

(Mújica, 1993), la quinua está ubicada dentro de la sección Chenopodia y tiene la siguiente posición taxonómica:

Reino:	Vegetal
División:	Fanerógamas
Clase:	Dicotiledóneas
Orden:	Angiospermas
Familia:	Chenopodiáceas
Género:	Chenopodium
Sección:	Chenopodia
Subsección:	Cellulata
Especie:	<i>Chenopodium quinoa</i>

### 2.2.3 Variedad Pasankalla o quinua roja

Esta variedad fue liberada en la región puno el año 2006, como obtentor y mantenedor es el Instituto Nacional de Innovación Agraria EEA Illpa Puno (INIA), Su adaptación está establecida en la zona agroecológica suni del altiplano entre los 3800 y 3900 msnm, con clima frio seco,

precipitación pluvial de 400 a 550 mm, con temperaturas de 4° a 15°C, en suelos de textura franco y franco arenoso con pH de 5,5 a 8,0. (INIA, 2013)

### 2.2.3.1 Descripción morfológica

En cuanto a su descripción morfológica esta variedad tiene el tipo de crecimiento herbáceo con un hábito de crecimiento simple, en cuanto al ciclo vegetativo se da en 144 días para el altiplano, 120 días para valles interandinos, 105 días para la costa, esta crece hasta una altura de 1.30 a 1.40m con un rendimiento de 3.54 t/ha. El grano es de aspecto opaco, el perigonio es de color púrpura, pericarpio de color plomo claro, episperma de color vino oscuro, perisperma de color blanco. El borde del grano es afilado y cilíndrico bastante uniforme, el diámetro es de 2.10mm, el rendimiento de semillas por planta es de 32 a 34g. (Apaza *et al.* 2013).



Figura 1. Fenología de la quinua variedad Pasankalla, (INIA, 2013)

### 2.2. 4. Variedad INIA Salcedo

obtentor y mantenedor es el Instituto Nacional de Innovación Agraria, EEA Illpa Puno (INIA) tuvo una adaptación que está establecida en el altiplano entre los 3800 y 3950 msnm, con clima semi seco frío, precipitación pluvial de 400 a 560 mm, con temperaturas de 6° a 17°C, en suelos de textura franco y franco arenoso con pH de 5,5 a 7,8. En cuanto a su descripción morfológica esta variedad tiene el tipo de crecimiento herbáceo con un crecimiento simple, en cuanto al ciclo vegetativo lo realiza en 150 días para el altiplano, 135 días para valles interandinos (INIA, 2013).

#### 2.2.4.1 Descripción morfológica

Presenta un tallo sin ángulos con un diámetro de 1.90-2.30cm, no presenta axilas pigmentadas y con estrías de color verde claro, el tallo principal es verde y no presenta ramificaciones. Las hojas son de bordes dentado con 12 a 30 dientes con una longitud máxima del peciolo 5.10-6.30cm, longitud máxima de las hojas 10.40-11.20cm (Apaza *et al.*; 2013).



Figura 2. Fenología de la variedad Salcedo INIA, (INIA, 2013)

### 2.2.5 zonas de cultivo

(Tello 2009) afirma que el sistema en el cual se desarrolla este cultivo es el de agua entre los valles andinos de Cusco, Urubamba, Valle del Mantaro entre otros, en donde la tierra es firme pero estas deben soportar estados extremos tales como las bajas temperaturas y brisas sólidas, paralelo a esto (Rivera, 1995) acota que también repercute la disponibilidad de agua ya que en zonas altoandinas como Ayacucho, con estas mismas condiciones pero de generación más destacada de nuestra nación se encuentran las sucursales de Puno, Ayacucho, Junín, Cusco, Apurímac y La Libertad.

Las características que existen entre las variedades de Pasankalla o quinua roja y Salcedo INIA están principalmente en sus composición teniendo la variedad Pasankalla con una Humedad de 9.62%; un porcentaje de proteínas de 17.83%; también fibra 3.00%; y grasa 6.29%; por otro lado la variedad Salcedo INIA tiene un porcentaje de humedad de 8.66%; de proteínas con un 16.23%; Fibra 1.84%; Grasa 5.20%. (Apaza, *et al*; 2013)

### 2.2.6 estacionalidad de la quinua peruana

La quinua en todo el Perú tiene un cultivo muy variable; siendo su producción ocasional, que está dada por las estaciones; la siembra empieza en septiembre, se da con más fuerza en octubre y noviembre y se extiende a los períodos de diciembre. En los meses de abril y mayo son los meses de porcentajes con más cosecha (tabla 1). La oferta de la quinua es casi permanente durante todo el año, mientras gran parte de la producción es ofertada meses que se da después de la cosecha, otra es almacenada racionada para la venta así la venta en meses posteriores. (Tello, 2009)

Tabla 1 La cosecha de quinua promedio por año (Tello, 2009) y (Montero 2017)

Quinua	(En miles de toneladas métricas)						
Meses	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2017
Enero	0	0	0	0.01	0	0	0.3
Febrero	0	0	0	0	0	0	0.2
Marzo	0.68	0.08	0.19	1.78	1.87	1.06	1.5
Abril	19.85	12.55	19.68	20.35	20.44	20.32	47.7
Mayo	6.26	11.29	9.93	5.39	6.28	4.79	28.6
Junio	1.9	1.9	2.05	2.15	2.21	2.71	11.4
Julio	1.15	0.97	0.54	0.67	0.95	0.74	4.5
Agosto	0.22	0.19	0.16	0.07	0.06	0.18	1.4
Setiembre	0.02	0.01	0.02	0.01	0	0.06	0.9
Octubre	0	0	0.01	0	0.01	0.01	1.1
Noviembre	0	0	0	0	0	0	1.2
Diciembre	0	0.01	0	0	0	0	1.2

### 2.2.7 Producción de quinua orgánica

(Crodau,1977) menciona que la zona de mayor producción de quinua orgánica está en Puno – Perú y Bolivia. Usualmente la quinua que se entrega en los Andes, se desarrolla de forma natural. La presencia del lago Titicaca es un factor determinante en la producción de esta. La quinua comúnmente es sembrada después de un cultivo de papa por esta razón la necesidad de abonos sintéticos es muy escasa y en algunos casos nula. Así mismo, actualmente existen propuestas e investigaciones innovadoras para la producción de quinua natural particularmente en Puno - Perú y Bolivia. Por otro lado, Tello (2009) destaca que se debe de diferenciar los distintos sistemas de producción de quinua, cuando son cultivos rotacionales se les denomina layme o aynocas en donde es común encontrar de 2 a 6 hectáreas de solo quinua, en los salares de Bolivia la siembra es muy distanciada por la escasa humedad por lo que solo se encuentran entre 2000 a 3800m.

Tipo Valle, se desarrolla con el maíz en Valle Andinos, en altitudes a partir de los 2000 a 3600 m. las plantas más ramificadas tienen largos periodos vegetativos. Las hojas suelen ser obtusas y superficialmente dentadas. en este grupo tenemos a la blanca de Junín, amarilla de Marangani. Tipo Altiplano, estas se desarrollan en lugares cercanos al lago Titicaca a una altura de 3 800 m.s.n.m., estos cultivos son característicos por poseer resistencia a las heladas, su talla es pequeña y sin ramas, panícula compacta tiene periodo vegetativo corto. Las hojas tienden a ser agudas y profundamente dentadas. Las semillas son esféricas. (Tello, 2009)

## 2.2.8 Bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV)

### 2.2.8.1 Definición y características

existe una capa alrededor de la raíz, incluido el rizoplasma y la superficie de la raíz. La razón por la cual existen demasiados microorganismos en la rizosfera es en realidad por efecto secundario derivado de la descarga de materia orgánica e inorgánica como los ácidos y azúcares naturales, por lo que en palabras de (Weert y Bloemberg, 2006) la rizosfera es un microambiente muy atractivo. De entre todos los organismos microscópicos, existen parásitos o saprofitos y de vida libre, la presencia de estos mismos propone un cambio común en la red, estructura y plenitud de las especies tal como lo menciona (Souto et al, 2004). Por otro lado (Milla 2007) afirma que existen 2 tipos de conexiones microscópicas: las que estructuran una asociación armoniosa con las plantas y los de vida libre que se encuentran en la tierra ya sea que se encuentren cerca de la planta o dentro de los micelios de estas mismas, usualmente estos microorganismos ayudan a mejorar la calidad o nivel de su desarrollo o bienestar, usualmente se les llama BPCV.

Del 2 al 5% de las rizobacterias completas están asociadas al desarrollo de la planta, estos pueden utilizar al menos un sistema inmediato o retardado para mejorar el desarrollo y bienestar. Algunos de ellos son controladores naturales de los patógenos y microorganismos inseguros, a través de la creación de agentes antiinfecciosos, compuestos líticos, cianuro de hidrogeno y sideróforos o mediante el desafío de los suplementos, estas acciones afectan el bienestar y el avance de las plantas, presentándose mejor desarrollo de plántulas, potencia y rendimiento más prominentes (León, 2001) y (Ahemad y Saghir, 2010).

### 2.2.8.2 Asociaciones benéficas planta-microorganismo

De entre todas las simbiosis entre microorganismo – planta existen 2 importantes: a) simbiosis entre el microorganismo - raíz y b) simbiosis entre microorganismos. Estas simbiosis están aisladas en inseguras, no partidistas y lucrativas. En la simbiosis existe como principal regla 4 impactos únicos: fito estimulación, bio fertilización, biorremediación y control biológico tal como indica (Weert y Bloemberg 2006). Las BPCV y los Agentes de Control Biológico (ACB) demuestran acciones que vela a su conveniencia como bio inoculantes, prestando poca atención al requisito de su capacidad primaria (Avis, *et al*; 2008).

### 2.2.8.3 Mecanismos de promoción directa del crecimiento

El avance directo del desarrollo ocurre cuando: 1) los PCB exacerbaban a las plantas sustancias que animan su desarrollo (ya sea del tallo o de la raíz), principalmente fitoreguladores, por ejemplo, auxinas y citoquininas, 2) cuando los microbios fomentan la permeabilidad de los suplementos para las plantas, por ejemplo, fijación por nitrógeno o solubilización de fósforo; o 3) cuando los microorganismos estimulan en la planta mecanismos de resistencia localizada. Se denomina

promoción directa por que no existen otros organismos involucrados más que la planta y el BPCV (Cárdenas, 2005).

Tabla 2 Mecanismos de acción directa de las BPCV (Sarabia, *et al*;2010).

Mecanismo	Efecto
Fijación de nitrógeno asociada a la raíz	Biomasa y contenido de nitrógeno
Producción de hormona (auxinas, citoquininas, giberelinas)	Biomasa (parte área y radical); ramificación de raíces; floración.
Inhibición de síntesis de etileno	Longitud radical
Aumento de la permeabilidad de raíz	Biomasa y captación de nutrientes

BPCV pueden suministrar ciertos complejos, por ejemplo, nutrientes, giberelinas, citoquininas, ácido – indol – acético y vitaminas en grandes cantidades, estos apresuran la germinación de la semilla, mejora el desarrollo de las plantas e incrementan la capacidad del cultivo. Estos sistemas indirectos ocurren cuando los metabolitos liberados por ciertos microorganismos que son utilizados como controladores de desarrollo y/o precursores de la planta (Tabla 2) Ávila (2004). Entre los componentes de actividad del BPCV, se destaca la expansión en la admisión de agua y suplementos por parte de la planta, la generación de fitohormonas y la fijación por el nitrógeno (Jiménez, 2004).

#### 2.2.8.4 Mecanismos de promoción indirecta del crecimiento

Esta se da cuando las BPCV reducen o previenen los efectos deletéreos producidos por bacterias fitopatógenos. Los mecanismos responsables de este biocontrol incluyen: la competencia por nutrimentos, la exclusión de nicho, la producción de metabolitos antifúngicos (algunos son antibióticos (Figura 3), que incluso pueden proteger a la raíz de las enfermedades causadas por el ataque de nematodos (Tello, 2009)

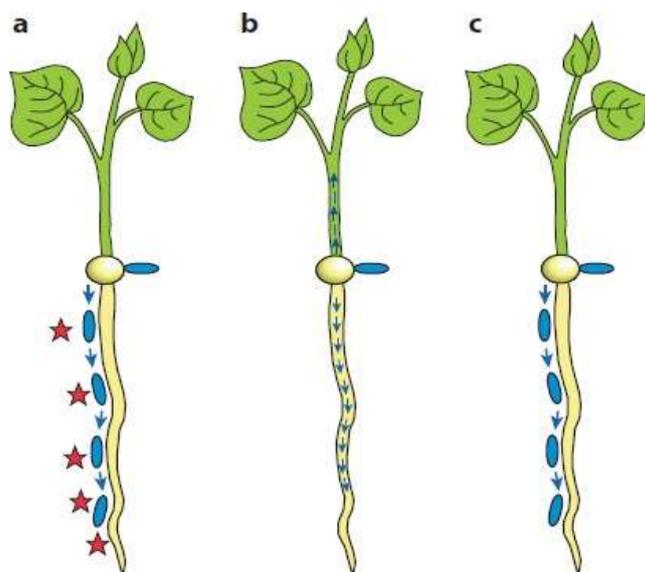


Figura 3. Mecanismos de control biológico de enfermedades en plantas por bacterias. (a) Antibiosis, (b) La Resistencia Sistémica Inducida (ISR) y (c) Competencia. (Lugtenberg & Kamilova, 2009).

#### 2.2.9 tipos de BPCV

Para (Karakurt y Aslantas 2010) hay una gran cantidad de géneros bacterianos que son considerados como organismos para el desarrollo de las plantas (BPCV) por ejemplo, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, entre otros. Mientras que Ochoa et al. (2010) ha propuesto la división en 2 grupos: el PGPB o Bacterias que promotoras del crecimiento de plantas que ayudan en el desarrollo de las plantas, influyendo en la admisión de agua y suplementos, el desarrollo del sistema radical y ayudan a el funcionamiento de otros microorganismos benéficos presentes en la rizósfera (Sarabia et al, 2010)

Algunos otros autores afirman que los beneficios producidos por estos organismos microscópicos en las plantas se deben a la amalgamación de las fitohormonas y la obtención natural del nitrógeno atómico (N<sub>2</sub>). Provocando una longitud radical que es más que la normal en la asimilación del agua y los suplementos (Schoebitz Cid, 2006). Algunas investigaciones han descubierto que los BPCV que fijan N o solubilizan P incrementan el desarrollo y la creación de albaricoque, nuez y manzana sin cáscara a largo plazo. Los trabajos de investigación con manzanas dieron a ver que un pequeño inóculo de los microbios expandió el crecimiento vegetativo y además tuvo impacto en la hoja con una sustancia dietética más alta. Estos microbios son significativos debido a los impactos que aplican sobre la tierra, lo que respalda una accesibilidad más notable de los suplementos y un desarrollo y mejora superior de las plantas de (Karakurt y Aslantas, 2010). Estos microorganismos también son significativos debido a que se ha visto que su aplicación permite disminuir la extensión actual de los compost (Adesemoye y Kloepper, 2009). BPCV ha recibido una gran consideración últimamente, en el campo de la biorremediación, en oposición al problema

inorgánico, los microorganismos pueden degradar e incluso mineralizar el problema natural en relación con las plantas (Ochoa et al., 2010).

#### 2.2.9.1 Importancia de las BPCV en los cultivos agrícolas

Hay pruebas que muestran que BPCV puede tener una verdadera historia de progreso en la horticultura factible. En cualquier caso, para que estos inoculantes microbianos tengan un resultado positivo, debe considerarse una progresión de cualidades, por ejemplo, la edad de la planta y las propiedades físicas, brebaje y natural de la suiedad., aumentan la competencia en el uso de estiércol y compost (Antoun y Prévost, 2006). Hoy en día, se utilizan diversos microorganismos con capacidades explícitas en el rubro agrícola para mejorar la rentabilidad de la planta. Los microorganismos proponen una fuente de suplementos que aprovechan el funcionamiento de las cosechas, y son una pieza de innovación que garantiza una eficacia natural, financiera y biológica progresivamente efectiva y sin contaminar la tierra. (Hernández & Escalona, 2003).

Hay casos fructíferos, por ejemplo, uno en México que fue impulsado el 20 de septiembre de 2000, que fue planeado en el laboratorio de Bioquímica que contiene una bacteria e inhibidor de avance de desarrollo. de los patógenos de Rhizoctonia y Fusarium que atacan el desarrollo de la papa, que controla suficientemente a pesar de la creciente rentabilidad por hectárea (Jiménez, 2004). Algunos artículos comerciales que contienen solo microorganismos, generalmente se denominan biofertilizantes, como a causa de Rhizobium, "fito-estimulantes", como en Azospirillum, "biopesticidas" cuando se utilizan para el control natural, por ejemplo, Pseudomonas o adicionalmente, "bioinoculante". Estos se pueden utilizar en cosechas anuales, pastos de hierba, hortalizas y árboles de productos orgánicos tal como los sugiere Aguirre y Al (2009). Cuando en la tierra hay niveles intermedios de N, P y K, demuestran que los microorganismos promotores del crecimiento no suplantán el tratamiento químico; sin embargo, mejora su producción, logrando grados similares de rentabilidad con un menor costo de abonos sintéticos (Schoebitz Cid, 2006).

El uso de los microorganismos a grandes escalas como biofertilizantes en cualquier marco de generación hortícola traería ventajas increíbles, ya que son menos costosos que los inorgánicos, afectan eficazmente a las plantas (como las de un compost de brebaje) y no generan un efecto sobre la tierra o afectan a la salud del humano. (Hernández y Escalona, 2003).

#### 2.2.10 *Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis* una bacteria tiene un movimiento bioquímico debido a su límite cosmopolita es una bacteria gram positiva, anaeróbica facultativa, consume mucho oxígeno, se adapta con facilidad, catalasa positiva, desarrolla endosporas que permite que vivan en condiciones antagónicas entran en una etapa de inercia o criptobiosis. Estas pueden extenderse y entrar en la

naturaleza, esta bacteria impermeable a las altas temperaturas, a los cambios osmóticos sólidos y a baja humedad, (Villarreal, *et al*; 2018)

Clasificación taxonómica de *Bacillus subtilis*.

Reino:	Bacteria
Filo:	Firmicutes
Clase:	Bacilli
Orden:	Bacillales
Familia:	Bacillaceae
Género:	Bacillus
Especie:	<i>Bacillus subtilis</i>

Elaborado por: (Villarreal,et al., 2018)

#### 2.2.10 .1 *Bacillus subtilis* Como bio controlador de fitopatógenos

*Bacillus subtilis* es una de las bacterias más investigados por su actividad fitopatógenos, debido a que esto en sus datos hereditarios comunica cualidades que codifican la síntesis de metabolitos peptídicos antiinfecciosos que restringen la declaración de ciertos microorganismos patógenos a través de la antibiosis. (Mendoza, 2018). Así también Márquez (2007) por otra parte menciona que a pesar de que la antibiosis es el componente utilizado por *Bacillus subtilis*, existen diferentes técnicas mediante las cuales aplica su antagonismo esto hace que sea de alto rango como biocontrolador por otro lado se muestra que las colonias de Bacillus tienen una superficie áspera o nivelada, de color claro y blanco, a veces tienen un nivel marginalmente curvado, sus bordes son impredecibles redondos y gruesos, cerosos o de consistencia. Los tipos de esporas o endosporas de estructura de Bacillus, que son estructuras que pueden resistir de manera autónoma al microorganismo inmaduro, son particulares para oponerse a condiciones ecológicas hostiles, por ejemplo, calor, sequedad, solidificación, radiación y sustancias sintéticas peligrosas, nuevamente Realpe, Hernández y Agudelo (2002) hacen referencia a que cuando se desarrolla *Bacillus subtilis* en Cordero Agar-Sangre, sus provincias tienen un ancho de 2 a 4 mm, beta hemolítico con hemólisis completa, que puede tener una apariencia suave, mucosa o áspera; Sus bordes pueden ser ondulados o extendidos en el centro y de vez en cuando dan la presencia de cosechas combinadas.

(Fravel, 2005), menciona que *Bacillus subtilis* se ha utilizado durante décadas para la elaboración de suplementos alimenticios (probióticos) para animales y humanos, así como de medicinas. En la actualidad una gran cantidad de *B. subtilis* y sus metabolitos como enzimas son utilizadas en la elaboración de productos biológicos de uso agrícola y biorremediación. En la agricultura esta bacteria y otras especies representan aproximadamente la mitad de los bio plaguicidas disponibles

comercialmente en el mercado mundial. El *Bacillus subtilis* es utilizado para el control de enfermedades fúngicas en vegetales, frutas, frutos secos y cultivos vitícolas.

#### 2.2.11 *Azotobacter spp.*

*Azotobacter sp.*, es un microorganismo habitual del suelo, fijador de nitrógeno y fabricante de sustancias para el desarrollo de las plantas. Está en su mayor parte conectado con la rizosfera (zona de la raíz) y en las hojas (filosfera) de numerosas plantas, estructura estructuras únicas llamadas quistes, las disminuciones en la preparación de nitrógeno se han exhibido en un 40% y los incrementos de rendimiento en un 25 a la mitad en hortalizas con la utilización de *Azotobacter spp.*, incrementos de 11% en rendimiento de zanahoria en maíz de 44% y en arroz de 8% y en 16% en cebada; Se han demostrado resultados beneficiosos en tomate, trigo, papa y girasol; Igualmente. *Azotobacter* puede fijar mínimamente 10 mg de N<sub>2</sub> por gramo de almidón, sin embargo, su diseminación biológica depende firmemente del problema natural, la viscosidad, la proporción C / N y el pH (Tejera y Al, 2005).

##### 2.2.11.1 Metabolismo

Son quimio heterótrofos, utilizan azúcares, alcoholes y sales inorgánicas para desarrollarse. Son fijadores de nitrógeno; en vida libre por lo menos fijan 10 mg de N<sub>2</sub> por gramo de azúcar (glucosa) gastado. Esperan que el molibdeno fije nitrógeno que en parte puede ser reemplazado por vanadio. Utilizan sales de nitrato y amonio y ciertos aminoácidos como manantiales de nitrógeno. Son seguros la catalasa y la oxidasa, disminuyen el nitrato, producen H<sub>2</sub>S e hidrolizan el almidón (Espín, 2007). Según (Sadoff, 1975), esta variedad involucra células polimórficas gramnegativas que se replican por doble separación y pueden combinar dos polímeros de importancia industrial: alginato y polihidroxibutirato (PHB). Algunos tipos de animales, por ejemplo, *A. vinelandii* y *A. chroococum* también pueden separarse en células circulares llamadas espinillas. Esta etapa ocurre cuando se expulsa la glucosa del medio de vida y se incluye un inductor quístico, por ejemplo, β-hidroxibutirato. Los crecimientos entregados por los microbios de la variedad *Azotobacter* se representan como redondos, producidos por el acortamiento y redondeo de una sola célula vegetativa con una doble capa que rodea la estructura entera.

##### 2.2.11.2 *Azotobacter* como promotor del crecimiento de plantas

El efecto de rizobacterias en maíz, se determinó en un experimento bajo un diseño de bloques completos aleatorizados (BCA) con arreglo factorial 4 x 3. El factor A correspondió a las bacterias con cuatro niveles: sin PGPR, *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Azotobacter* + *Azospirillum*. Las bacterias se inocularon en las semillas (1 07 bacterias/g) y en campo se aplicó fertilizante químico (150 N - 75 P - 75 kg ha<sup>-1</sup>) en todos los tratamientos. A la cosecha, las bacterias incrementaron significativamente el rendimiento

y componentes, alcanzándose los mayores valores con Azotobacter, El efecto de la inoculación en conjunto de Azotobacter y Azospirillum fue significativamente igual que el de Azospirillum y a su vez, ambos fueron superados por Azotobacter, por otro lado, para determinar el efecto de diferentes fertilizantes biológicos y químicos en el rendimiento de maíz se realizó un experimento en condiciones de campo, bajo un diseño de bloques completamente aleatorizado, BCA, con arreglo 8 factorial. El factor A correspondió a la inoculación de Azotobacter (con o sin), parámetros del maíz, alcanzándose los mayores valores con la interacción de ambos. Se demostró que con Azotobacter se disminuyó en 50 % los requerimientos de nitrógeno y fósforo en el cultivo de maíz (Sarajuohi, *et al*, 2012).

#### 2.2.12 *Pseudomonas spp*

Los organismos microscópicos de la clase Pseudomonas tienen una capacidad extraordinaria para utilizar una variedad variada de suplementos, razón por la cual se aclara su universalidad. Su movimiento enzimático los convierte en una importante reunión de microorganismos, ya que son responsables de la degradación que consume oxígeno de numerosas mezclas en diferentes entornos (Pérez, *et al*, 2012). Recientemente, diferentes creadores como (Hernández, *et al*, 2014) revelaron recientemente la viabilidad de las cepas de Pseudomonas con acción hostil, contra fitopatógenos que influyen en rendimientos de importancia financiera.

Esta familia bacteriana es un caso sorprendente de la mezcla de varios componentes a través de los cuales aplica un control orgánico convincente, recordando la enemistad directa y el alistamiento de obstrucción para la planta de. Sea como fuere, Pseudomonas no puede crear esporas de obstrucción, lo que restringe su plan para uso comercial. *P. fluorescens* produce metabolitos, por ejemplo, sideróforos, antimicrobianos, mezclas inestables, catalizadores y fitohormonas (Showkat *et al*, 2012). Por otra parte, hay varios especialistas que informan que esta bacteria es un patógeno en rendimientos de importancia monetaria (Pérez *et al*, 2012)

#### Generalidades de *Pseudomonas fluorescens*

*Pseudomonas fluorescens* son microorganismos baciliformes, de alto impacto, tienen algunos flagelos polares. Son conocidos por su capacidad para animar el desarrollo de plantas que viven en contacto con ellas (Madigan y Martinko, 2005). Este lo clasifica en:

Reino:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Gammaproteobacteria
Orden:	Pseudomonadales
Familia:	Pseudomonadaceae
Género:	Pseudomonas
Especie: <i>Pseudomonas fluorescens</i>	

Estos organismos microscópicos son bacilos gramnegativos, rectos o marginalmente doblados y saprófitos. Se pueden encontrar en ambientes marítimos y en la tierra. No enmarcan esporas y la temperatura más grande para su mejora es de 25 a 30 ° C, a pesar de que pueden desarrollarse de 5 a 42 ° C. Requiere un pH imparcial y no se desarrolla en ácido condiciones ( $\text{pH} \leq 4.5$ ). Sus flagelos polares hacen posible su desarrollo dinámico en fluidos. Su tono fluorescente (fluoresceína) responde a la luz brillante, aunque de vez en cuando no fluye cuando la forma de vida es posterior o después de unas pocas sociedades de investigación. Florecen en el exterior de las raíces, ya que son adaptables en su digestión y pueden utilizar diferentes sustratos creados por ellos, interactuando en una ruta cooperativa con la planta (Madigan y Martinko, 2005).

*Pseudomona fluorescens* tiene una capacidad extraordinaria para solubilizar fósforo. La bacteria puede llevar a cabo este movimiento a través de dos cursos: el primero es la generación de ácidos naturales (cítricos, oxálicos, glucónicos) que siguen el pH de la suciedad, favorecen la solubilización del fósforo inorgánico y descargan el fosfato a la suciedad. El otro curso es a través de las fosfatasas, estas son proteínas de hidrolasa (monosterasas y diesterasa fosfórica) que dan seguimiento a los enlaces éster, descargando las acumulaciones de fosfato de emisión natural. Las dos vías producen una medida más prominente de fosfato, accesible para ser consumida por los cimientos subyacentes de las plantas de (Cornelis, 2008). Otra perspectiva excepcional en *Pseudomona fluorescens* es la creación de sustancias vigorizantes para el desarrollo. Las sustancias principales de este tipo son las hormonas (auxinas, giberelinas y citoquininas). Además, también producen aminoácidos y anunciantes explícitos de desarrollo de plantas. La creación de estas sustancias es concebible dado que la convergencia de los seres vivos en el marco de la raíz es satisfactoria y que existe un problema natural suficiente en la tierra (Madigan y Martinko, 2005).

Mecanismos de acción de *Pseudomonas fluorescens* como estimuladora del crecimiento en plantas, Se escribe mucho sobre la utilización potencial de los microbios relacionados con las plantas como operadores que fortalecen su mejora y bienestar. (Ahmet y col, 2010) Esa es la razón por la que (Bashan *et al.* 2003) propusieron dos nuevos términos para la utilización lógica general de PGPB; Estos fueron: desarrollo de plantas que avanzan los microorganismos biocontroladores,

por ejemplo, biocontrol en plantas (Biocontrol-PGPB) y microbios animadores de desarrollo de plantas (PGPB).

- Secuestro de hierro: la partícula férrica de  $Fe_3$  + es la estructura trascendente en la naturaleza, por lo que la medida de hierro accesible para ser absorbida por las formas de vida es increíblemente baja. (Bashan, *et al*; 2003).

*Pseudomonas putida*, (Rives, *et al*; 2012) también lo considera como organismos microscópicos diazotróficos, que como inoculantes microbianos establecen una opción increíble en la utilización de compuestos de nitrógeno. Estos microbios pueden disminuir el nitrógeno climático, donde se encuentra como nitrógeno esencial sin límites, y hacerlo accesible para los cultivos.

#### 2.2.12.1 *Pseudomonas fluorescens* como agente de control biológico

La manera más común de controlar plagas es fertilizantes químicos; sin embargo, se ha visto que estos tienen consecuencias negativas en todo el ambiente y por consecuencia de la salud humana (Kah y Brown, 2007). Una de las opciones muy prometedoras para el control de fitopatógenos es el grupo de *Pseudomonas fluorescentes*. Esta colección bacteriana es muy importante colonizador de la rizosfera de la planta (Rands, 2003). La clase *Pseudomonas* produce mezclas extracelulares conocidas como bio surfactantes. La investigación dirigida por (Tran, *et al*; 2007), indicó que los bio surfactantes entregados por las especies *Pseudomonas* tienen movimiento lítico en las zoosporas de los géneros *Phytophthora* y *Pythium*.

#### 2.2.13 Nitrógeno

El nitrógeno es regularmente el componente más escaso en la generación de cultivos e (INPOFOS, 1997) hace referencia a que es fundamental para el desarrollo de las plantas, que requieren una gran cantidad de N para desarrollarse normalmente. (Gros, 1992) muestra que el fósforo y el potasio pueden acumularse en la tierra, siendo accesibles para las plantas. De todos los componentes saludables, el nitrógeno es el que no existe en la roca madre. El que está en el suelo se origina en el clima. (Bazan, 2014) también (Tisdale y Werner, 1991) mencionan que hay etapas que se comparan con un período de desarrollo extremo donde el requerimiento de nitrógeno es más notable ya que pueden ser a causa de la fructificación, el florecimiento y el conjunto de productos orgánicos, una planta que siempre. Con el nitrógeno se obtiene una mejora decente de las hojas y los tallos.

El nitrógeno como una característica de la partícula de clorofila se dedica al procedimiento de la fotosíntesis. Es un componente de nutrientes, de esta manera, adicionalmente un componente básico de aminoácidos, estas proteínas de estructura y otras mezclas naturales básicas (compuestos, coenzimas, nutrientes, ácidos nucleicos) (INPOFOS 1997) y (Scheiner y Lavado 1999). La reserva de N se identifica con la utilización de azúcares. En el momento en que el N es

deficiente, los almidones se almacenarán en las células vegetativas causando el engrosamiento de (Bazán, 2014) igualmente se da cuando se da que no hay presencia de nitrógeno, las plantas tienen tallos delgados y leñosos que pueden ser resultado a la realización de abundancia de carbohidratos que no se usan en la amalgamación amino corrosiva. En el momento en que la reserva es suficiente y las condiciones son positivas para el desarrollo, las proteínas se forman a partir de almidones hechos. De esta forma, se conservan menos almidones en la parte vegetativa, se forma más material celular y debido a que el material celular está profundamente hidratado, resultan plantas suculentas progresivas (Zeiger y Taiz, 2006).

En el momento en que el inventario de N de la condición de la raíz es deficiente, el N de las hojas viejas se activa para sostener los órganos juveniles de la planta. Por lo tanto, las plantas que experimentan los efectos nocivos del N carecen de efectos secundarios de insuficiencia en bastante tiempo. En tales hojas, las proteínas se han hidrolizado y los aminoácidos posteriores se redistribuyen a las partes juveniles. La proteólisis provoca una descomposición de los cloroplastos y una disminución del contenido de clorofila. En consecuencia, el amarillamiento de las hojas viejas es un primer indicio de la alimentación insuficiente de N. (Salisbury y Ross, 1994). Esto provoca un desarrollo temprano y senescencia debido a la ausencia de nitrógeno está conectado con el impacto del stock de N en la combinación y transporte de citoquininas. Esta fitohormona promueve el desarrollo y mantenimiento vivaz de la planta en una etapa progresivamente joven. (Bazán, 2014)

La insuficiencia de N provoca clorosis foliar debido a la proximidad de las medidas disminuidas de clorofila que, en casos extremos de insuficiencia de nitrógeno, las hojas se vuelven totalmente amarillas y luego se consumen al morder el polvo. (Salisbury y Ross, 1994) y (Tisdale y Werner, 1991).

Los efectos secundarios de una planta que necesita nitrógeno son

- Crecimiento retrasado
- sombreado amarillento pálido
- Quema de las puntas y bordes de las hojas.
- Bajo contenido de proteínas (Fertilizantes, 1993)

El N consumido por los cimientos subyacentes de las plantas se mueve a través del xilema hacia la parte superior de la planta. Prácticamente todas las sales de nitrógeno ingeridas se absorben en el tejido de la raíz y se redistribuyen como aminoácidos. La urea es un compuesto natural integrado a partir de mezclas inorgánicas. (INPOFOS, 1997).

La forma de vida toma nitrógeno nítrico, en cualquier caso, cuando se aplica nitrógeno amoniacal, debido a la rápida oxidación microbiana de las sales aromáticas en la suciedad. El pasaje de  $\text{NO}_3$

a la planta es un procedimiento funcional, contra una pendiente electroquímica. Como lo indican (Gros, 1992), el nitrógeno se ingiere en su mayor parte en la estructura nítrica ( $\text{NO}_3$ ). (Tisdale y Werner, 1991) afirman que el nitrato prevalece en el aire bien circulado a través de suelos algo ácidos o ligeramente solubles. Estos creadores equivalentes notan que el nitrógeno nítrico es el último período de mineralización de las reservas naturales, esto resulta de la oxidación de nitrógeno amoniacal a nitritos y luego a través de la actividad de los microorganismos nitrificantes en la suciedad que entran en nitratos, que es la estructura debajo de la cual la planta ingiere la mayor cantidad de nitrógeno. El nitrógeno nítrico es muy solvente en el agua y no es retenido por la intensidad adsorbente de la suciedad. Se desploma a través del agua a una velocidad que depende de la estructura física de la tierra, a lo largo de estas líneas, debe ser consumida por las raíces con el objetivo de que no se pierda por el drenaje. Cuando los nitratos son consumidos por la planta, deben seguir el proceso de cambio, estos se reducen a nitritos en el citoplasma y luego a sales aromáticas en el cloroplasto para finalmente ser utilizados en la mezcla de proteínas. (Gros, 1992).

En condiciones cada vez más favorables para el desarrollo de las plantas, la gran mayoría del  $\text{NH}_4$  en la tierra se cambia a  $\text{NO}_3$  por métodos para nitrificar organismos microscópicos. (INPOFOS 1997).

#### 2.2.14 Fosforo

El fósforo es esencial para el crecimiento de la planta y no puede ser sustituido por ningún otro nutriente. (Fertilizantes, 1993) menciona que la mayor parte de los cultivos tienen más necesidad de este elemento al comienzo de su ciclo de crecimiento. (INPOFOS, 1997).

(El fósforo en la mayoría de plantas se encuentra en menos cantidad que el nitrógeno y el potasio. (Tisdale & Werner 1991) El contenido promedio de P en los suelos del mundo es de 800 mg/kg y varía entre 35 a 5300 mg/kg. (Sparks 1995). A diferencia del nitrógeno, el fósforo lo podemos obtener una pequeña parte a partir de la roca madre, tras muchas transformaciones fisicoquímicas y biológicas pasa a la solución suelo al final del proceso. (Gros, 1992).

Las plantas absorben el fósforo de la solución suelo en forma proporcional a la concentración de iones fosfato que se hallen en la solución, el nivel de fósforo disponible en suelos cultivados tiende a acumularse en las capas superficiales. El fósforo en el suelo puede clasificarse en general como orgánico e inorgánico, dependiendo de la naturaleza del compuesto en el cual se encuentra. La fracción inorgánica está en numerosas combinaciones con hierro, aluminio, calcio, flúor y otros elementos, los cuales son poco solubles en agua. (Tisdale y Werner, 1991).

Valores bajos de pH incrementa la absorción del ion  $\text{H}_2\text{PO}_4$ , mientras los valores más altos del pH incrementan la absorción de la forma  $\text{HPO}_4$ . Pero la mayoría de plantas absorben en forma más rápida el fósforo del ion primario  $\text{H}_2\text{PO}_4$  y pequeñas cantidades del ion secundario  $\text{HPO}_4$

son absorbidas. (Gros 1992); El P cumple un papel importante en la fotosíntesis, la respiración, almacenamiento y transferencia de energía, la división y crecimiento celular. También promueve la rápida formación y crecimiento de las raíces, además el P está involucrado en la transferencia de características hereditarias de una generación a la siguiente. (INPOFOS, 1997). El papel fundamental del fósforo es la transferencia de energía (Gros 1992). Los iones fosfóricos son capaces de recibir energía luminosa captada de la clorofila y transportarla a través de la planta. La principal ruta de asimilación del fosfato es la formación de ATP. En la mitocondria, la energía que se dirige a la síntesis de ATP procede de la oxidación del NADH producto de la fosforilación oxidativa (Zeiger y Taiz, 2006).

El desarrollo radicular se ve favorecido por una buena fertilización fosfórica al principio del ciclo vegetativo sobre todo si va acompañado de nitrógeno en forma amoniacal. (Gros 1992). El P se localiza en los fosfolípidos participando activamente en la formación de las membranas, además se encuentra como constituyente de nucleoproteínas y participa en la transferencia de las características hereditarias por los cromosomas como constituyente del DNA y del RNA (Alcantar y Trejo, 2009).

El principal mecanismo de transporte del P a la superficie radicular, el flujo de masa contribuye en una baja proporción aproximadamente 20% (Bazan Quintana, 2014) y según (INPOFOS, 1997) se da dado que las raíces de un cultivo en crecimiento contactan solamente del 1% al 3% del suelo en los primeros 15 a 20 cm superficiales. El fosfato absorbido por las células de las plantas rápidamente se involucra en procesos metabólicos, este elemento a diferencia del N no es reducido en la planta al ser asimilado, sino que es incorporado a los compuestos orgánicos en su mismo estado de oxidación, se ha observado que después de los 10 minutos siguientes a la absorción, el 80 % del fosfato absorbido se incorporó en compuestos orgánicos (Alcantar y Trejo, 2009).

Las plantas pueden absorber pequeñas cantidades de  $P_2O_5$  por contacto directo de las raíces con los elementos sólidos, pero la mayor parte lo toman de la solución del suelo, en forma de iones fosfato. Estos iones se desplazan desde las raíces hasta las hojas por medio de la corriente que crea la transpiración de la planta. La absorción es muy activa durante el periodo de máximo crecimiento y se reduce a partir de la floración. El fósforo es un elemento muy poco móvil en el suelo, generalmente se mantienen en el lugar donde ha sido colocado el fertilizante y los iones fosfatos no pueden ser extraídos por las raíces cuando están separados por una distancia de más de 2mm. Las pérdidas de este elemento por lavado son prácticamente despreciables aun en suelos arenosos (INPOFOS 1997) y (Gros 1992). La mayoría de suelos tamponan rápidamente las adiciones de fósforo y raramente la solución suelo presenta concentraciones que puedan causar toxicidad. Tal vez los síntomas más comunes de exceso de fósforo son los ocasionados por las deficiencias inducidas de micronutrientes, particularmente de Zn y Cu (Sanchez, 2006).

A un pH entre 5 y 6, los fosfatos se fijan principalmente como fosfatos de hierro y fosfatos de aluminio y se hacen menos disponibles. Cuando el pH se eleva de 7.5 a 8.5, los fosfatos precipitan con el calcio. Generalmente la fijación del fosfato es más baja y su disponibilidad más alta en los límites ligeramente ácidos de 6.2 a 6.5. (Fertilizantes, 1993). La mayor parte del fertilizante fosforado incorporado al suelo permanece móvil y es utilizado por la planta, en suelos medianamente ácidos a neutros. En suelos calizos puede producirse una fijación lenta e irreversible de una parte del fósforo en forma de fosfatos tricálcicos. (Gros, 1992)

Los factores que afectan la solubilidad del P son de gran trascendencia en el crecimiento de las plantas, siendo muy importante la actividad de los microorganismos que mineralizan compuestos orgánicos liberando P inorgánico. El Nitrógeno, especialmente en forma de amonio, aumenta la solubilidad de los compuestos de P en suelos alcalinos como consecuencia de la nitrificación y también induce a un incremento en la absorción de P por parte de la planta (Bazan, 2014).

(Fertilizantes, 1993) los síntomas de una planta que le falta fósforo son:

- Poco desarrollo, sobre todo de las raíces
- Retraso en la madurez
- Coloración púrpura del follaje de algunas plantas
- Falta de desarrollo de los frutos y semillas

La deficiencia de P se puede producir incluso en suelos bien provistos de P. también (Bazan, 2014) indica que en muchos suelos se ha demostrado que todas las fuentes comunes de P son similares agronómicamente cuando se aplican las mismas dosis y cuando los métodos de aplicaciones son comparables. (INPOFOS, 1997)

Si bien es raro encontrar toxicidad de P en el suelo debido a la gran retención que este nutriente sufre, un exceso puede inducir a deficiencias de zinc, hierro, calcio, boro, cobre y manganeso; pero también, puede prevenir la absorción de concentraciones tóxicas de aluminio y metales pesados. (Bazán, 2014). Las pérdidas más importantes de fósforo del suelo, se deben a las exportaciones de los cultivos que es muy diferente entre especies y variedades de los cultivos (Gros, 1992).

#### 2.2.15 Potasio

Las plantas consumen potasio en sumas más prominentes que los diferentes suplementos además del nitrógeno. A diferencia del fósforo, el potasio está disponible en cantidades moderadamente enormes en muchos suelos, en cualquier caso, solo un pequeño segmento es accesible para las plantas de (Bazan, 2014) y Tisdale y (Werner, 1991).

El potasio contenido en los suelos comienza por la podredumbre y la desintegración de las rocas que contienen minerales de potasio (Tisdale y Werner, 1991). A diferencia de N y P, K no forma

mezclas naturales en la planta, su capacidad primaria se identifica en su mayor parte con numerosos procedimientos metabólicos (INPOFOS 1997).

(Tisdale y Werner, 1991) informan los elementos fisiológicos acompañantes del potasio:

- Ajuste de la apertura de la estoma y las relaciones con el agua.
- Digestión de carbohidratos, disposición y cambio de almidón.
- Mezcla de metabolismo y proteínas.
- Promoción del desarrollo de tejidos meristemáticos.
- Activación de algunos catalizadores.

El potasio cuando está presente como catión  $K^+$ , junto con su acción con partículas, asume un trabajo principal en la guía del potencial osmótico, el contenido de agua celular, la turgencia celular, la corriente y el nivel de sudor. Garantiza una oposición más notable de la planta a la estación seca, explotando el sistema de agua de agua (Taiz y Zeiger, 2006) y (Gros, 1992). Por otra parte, también se ha visto que el potasio participa en la fotosíntesis, apoya la mezcla de azúcares en la hoja al igual que el desarrollo de estas sustancias y su acumulación en ciertos órganos. El vehículo de azúcares y mezcla de proteínas requiere vitalidad como ATP, que requiere  $K$  para su unión. El potasio en mezcla con el fósforo favorece la mejora de la raíz y da una consistencia más prominente a los tejidos. Además, la protección contra la infección aumenta (Gros, 1992).

En la roca madre, los desarrollos cristalinos y volcánicos son comúnmente ricos en potasio, pero esto es insoluble para todos los efectos; Por lo tanto, la planta no puede utilizarlos. Sea como fuere, bajo la actividad de especialistas climáticos y raíces, una pequeña parte de este potasio es dinámicamente accesible para las plantas. Así la accesibilidad al potasio está en su punto más elevado entre 6 a 7 pH. La idoneidad del potasio en respuesta a su ingestión por los cultivos se ve afectada por la proximidad de diferentes cationes, por ejemplo, Ca, Mg y Al en suelos corrosivos y Na en suelos influenciados por sales. (Bazan, 2014)

La falta de potasio no produce de inmediato efectos secundarios notables. (Guevara, 2010) Primero, solo hay una disminución en la tasa de desarrollo, finalmente, una disminución de los rendimientos, esto se conoce como hambre envuelta, y en consecuencia, hay clorosis y corrupción que comienza en los bordes y el cenit de las hojas. Estos efectos secundarios generalmente comienzan en las hojas viejas, debido a la forma en que suministran  $K$  a las hojas jóvenes. Las plantas con  $K$  insuficiente muestran una disminución de la hinchazón y, bajo los estados de presión del agua, se secan y se vuelven flácidas y son cada vez más vulnerables al daño por enfermedades y condiciones salinas (Taiz y Zeiger, 2006). La abundancia de potasio accesible en la tierra provoca una disminución en la ingestión de diferentes cationes, por lo que puede influir en el rendimiento y la naturaleza de las cosechas. (Bazan, 2014)

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Zona de estudio

La investigación se realizó en el distrito de Puno e Ilave, provincia de Puno, de la región Puno. Las muestras fueron recolectadas de las parcelas de cultivo de INIA en la rinconada salcedo puno en las coordenadas del Instituto Nacional de Innovación Agraria Latitud:  $-15.881820^{\circ}\text{S}$  Longitud:  $-70.000504^{\circ}$  y de las parcelas de cultivo de papa de una comunidad campesina de Camicachi: las cuales se encuentran localizados en Lat:  $-16.0855$  y Lon:  $-69.6390$ -



Figura 4. Toma satelital de lugares de toma de muestras Camicachi - Ilave e INIA Salcedo Puno, enero 2019

Según estación meteorológica (inalámbrica) marca Vantage Pro2 (figura n°5) Que se encuentra en la estación experimental del INIA las parcelas cuentan con una temperatura ambiente mensual en enero de  $11.5^{\circ}\text{C}$  en febrero de  $10.2^{\circ}\text{C}$  en marzo  $10.5^{\circ}\text{C}$ , abril con  $9.74^{\circ}\text{C}$  con picos de  $19.7^{\circ}\text{C}$  como temperatura máxima y  $0.7^{\circ}\text{C}$  de temperatura mínima, con precipitación de 217.79 mm en enero, 120.51 mm en febrero 83.71mm en marzo, 54.05mm en abril, 17.5mm en marzo, humedad relativa en los cuatro meses de 70,92 %; evaporación media de 111,33 mm y una velocidad máxima del viento de  $5,44\text{ m s}^{-1}$  y mínima de  $3,64\text{ m s}^{-1}$ . Se ubica en el área de clima templado andino



Figura 5. Equipo meteorológico Vantage pro 2, ubicado en parcelas de INIA salcedo, (enero - abril 2019)

### 3.2 Tipo y nivel de investigación

El tipo de investigación fue experimental, analítico con nivel aplicativo, debido a que se inoculo una carga bacteriana fijadora de nitrógeno, solubilizadora de potasio y de fosforo aislada y presente en suelos de cultivo de parcelas de INIA Salcedo y una comunidad en Ilave llamada Camicachi en semillas de quinua para evaluar su crecimiento in situ en parcelas experimentales de la misma institución (INIA) el crecimiento de la plántula se evaluó en 120 días. las muestras recolectadas se procesaron en el laboratorio de INIA salcedo laboratorio de micropropagación de cultivos.

### 3.3 Método

3.3.1. Identificación de bacterias biofertilizantes (solubilizadoras de fosfato y potasio y fijadoras de nitrógeno) en suelos de INIA Salcedo y Camicachi del distrito de Ilave – Puno

#### 3.3.1.1 Frecuencia y Muestreo

Método de muestreo aleatorio simple o al azar, cuyo fundamento de este tipo de muestreo (figura 6) se emplea en casos en los que se dispone de poca información acerca de las características de la población a medir (Instituto cambio climatico, 2017). El medio más común para minimizar la desviación estándar en esta selección es asignarle un número a cada unidad de población y extraer unidades de muestras de una tabla de números aleatorio (Lozano, 2014). Este tipo de muestreo es recomendable para áreas homogéneas menores a cinco hectáreas, delimitadas por referencias visibles a lo largo y ancho de toda la zona (Valencia y Hernández 2002).

Tipos de muestreo: a) aleatorio simple; b) aleatorio estratificado; c) sistemático rejilla rectangular; d) sistemático rejilla polar

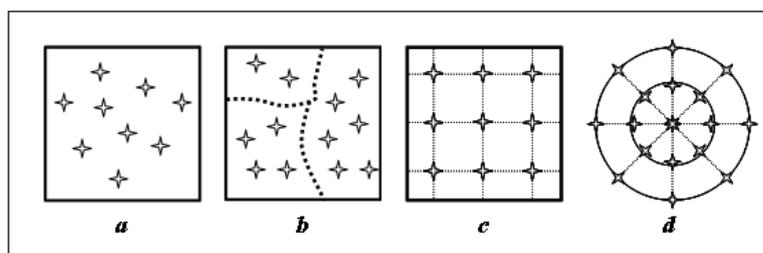


Figura 6. Tipos de muestreo de suelos, (Lozano, 2014)

El campo de cultivo limitado fue aproximadamente de 100 m<sup>2</sup>, dicho terreno se dividió en nueve cuadrantes y a partir de estos cuadrantes indicados se colectaron las muestras al azar a profundidades de 10 a 20 cm con la ayuda de un pico y una pala, se muestreó 500g de suelo de cada punto.(Mendoza & Espinoza, 2017)

El número total de muestras evaluadas fueron de 6, en la comunidad de Ilave se muestrearon 3 suelos de cultivo de papa y en INIA salcedo de igual manera se recolecto 3 muestras de suelo de cultivo de papa de manera aleatoria, los cuales fueron rotuladas especificando hora, fecha y sitio; luego fueron trasladados en bolsas de cierre hermético en una caja de Tecnopor con hielo para mantenerlas a temperatura de 4°C para su conservación y traslado al laboratorio para evaluar la carga microbiana. (Mostacedo, et al., 2000)



(a)

(b)

Figura 7.(a) y (b) obtención de muestra de suelo Camicachi e Inía Salcedo (diciembre 2018).

El transporte; muestras de suelo recolectadas fueron llevadas al laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional del Altiplano, en envase de Tecnopor con hielo para conservar la muestra de suelo donde se procedió a extender la muestra en una superficie previamente desinfectada para dejar que la tierra seque 12 horas aproximadamente, realizarle el análisis de biofertilidad (características de suelo) en el laboratorio de suelos de la facultad de ingeniería

agronómica para después realizar el tamizado de las muestras y su respectiva dilución ya antes mencionada. (anexo 8.2.2)



(a)

(b)

Figura 8. transporte de muestras de suelo, (a) muestra de suelo de la estación experimental salcedo (b) recolección de muestra de suelo de Camicachi Ilave; (diciembre 2018).

3.3.1.2 Análisis de caracterización de suelos

Tabla 3 caracterización de suelos INIA Salcedo y Camicachi, elaboración propia, enero 2019.

Diciembre 2018

Parámetros	Centros poblados		Promedio	Desviación estándar	C.V
	INIA SALCEDO	CAMICACHI ILAVE			
Arena (%)	52.10	48.00	50.05	2.90	5.79%
Arcilla (%)	35.00	49.00	42.00	9.90	23.57%
Limo (%)	12.90	3.00	7.95	7.00	88.05%
Clase textual	FRANCO ARCILLO ARENOSO	ARCILLO ARENOSO	no aplica	no aplica	no aplica
Materia orgánica (%)	5.90	3.15	4.53	1.94	42.97%
N total (%)	0.14	0.11	0.13	0.02	16.97%
pH(unidades)	7.25	7.07	7.16	0.13	1.78%

C.E. (ms/cm)	0.22	0.14	0.18	0.06	31.43%
P. disponible (ppm)	15.76	10.10	12.93	4.00	30.95%
K. disponible (ppm)	258.00	88.00	173.00	120.21	69.48%

Se encontró un pH de 7,5 considerado óptimo para el desarrollo de la planta, una baja conductividad eléctrica (0,18 ms/cm), lo que indica que no había problemas de salinidad.

a) Aislamiento de bacterias

- *Azotobacter spp.*

Se vertió 0.1mL de la muestra de dilución en una placa con agar sulfato manitol y se extendió con una espátula digalski. Se procedió a incubar (25°C aproximadamente) agar libre de nitrógeno y se incubaron a 31°C por 48 horas. terminado este procedimiento las colonias que se desarrollaron fueron aisladas en otras placas Petri para mantener el cultivo puro.

la composición del medio utilizado para las bacterias fijadoras de nitrógeno se detalla a continuación

Glucosa 10 g/L, Nitrato de potasio 5 g/L, Cloruro de potasio 0.2 g/L, Sulfato de amonio 0.5 g/L, Sulfato de magnesio 0.1 g/L, Sulfato de manganeso trazas 0.1g/L, Púrpura de Bromocresol 0.125 g/L, Agar 15 g/L, pH 7.0 ± 2 el cal se preparp para el cultivo selectivo de las bacterias. (Guevara Granja, 2010) el medio cambia de color indicando la acción del microorganismo.



Figura 9. Cultivos en medio de libre de nitrógeno, laboratorio INIA Salcedo, (enero 2019).

- *Bacillus spp.*

Primero se sembró en agar nutritivo la dilución ya antes realizada 1ml con una pipeta en una placa con medio nutritivo y se extendió con una espátula digalski. La incubación a 35°C se mantuvo por 24 horas. El procedimiento se realizó por duplicado hasta obtener cultivo puro de las cepas sospechosas de especie Bacillus.



(a)

(b)

Figura 10. Aislamiento de cepas de Bacillus, laboratorio INIA, (enero 2019)

- *Pseudomonas spp.*

Con una pipeta se vertió 0.1mL de 1 muestra antes diluida en una placa petri con medio agar pseudomona. Ésta se incubó por 24 horas a una temperatura de 35°C. Posteriormente se realizó un repique el procedimiento se realizó por duplicado. A partir de un cultivo joven se realizó pruebas bioquímicas para la identificación. (Producción de bacterias fijadoras de nitrógeno (Azotobacter, Bacillus y Pseudomonas); en medio líquido a base de melaza, para su aplicación en las semillas.



Figura 11. Aislamiento de pseudomonas, laboratorio INIA, (enero 2019)

b) Identificación.

se realizaron pruebas microscópicas y bioquímicas siguiendo los siguientes procedimientos: identificación microscópica, se realizó con el método

- Método de Tinción Gram

Fundamento del método es muy importante en Microbiología, permite realizar diferencias taxonómicas, separando dos grandes grupos de bacterias (gram-positivas, de color violeta azulado, y gram-negativas, de color granate o rojo-rosado), (Esaú López-Jácome et al., 2014)

Procedimiento que se realizó fue tomar una muestra colonias obtenidas en los procedimientos anteriores. Las muestras se observaron al microscopio hasta un aumento de 100x

1.Preparar la extensión del cultivo: En un portaobjetos limpio, libre de grasa, y con un asa bacteriológica colocar una pequeña cantidad de la colonia bacteriana.

a) Muestra solida: colocar solución salina previamente a colocar la colonia, igual en muestra semisólida.

b) Muestra liquida: colocar la colonia directamente.

2. Dejar secar al aire, luego fijar la preparación pasando la placa rápidamente por el mechero (2 o 3 veces).

3. Agregar violeta cristal durante 1 minuto, el cual tiene afinidad con el peptidoglicano de la pared bacteriana, enjuagar con agua seguidamente.

4. colocar en la preparación Lugol por tiempo de 1 minuto, enjuagar con agua.

5. agregar alcohol acetona y enjuagar automáticamente,

5 añadir safranina a la preparación por tiempo de 1 minuto, enjuagar a chorro de agua.



Figura 12. Método de tinción Gram, realizado para cada uno de los cultivos. Laboratorio Inía, (enero 2019).

De las cuales se obtuvieron las siguientes muestras características de los generos que se buscaban aislar

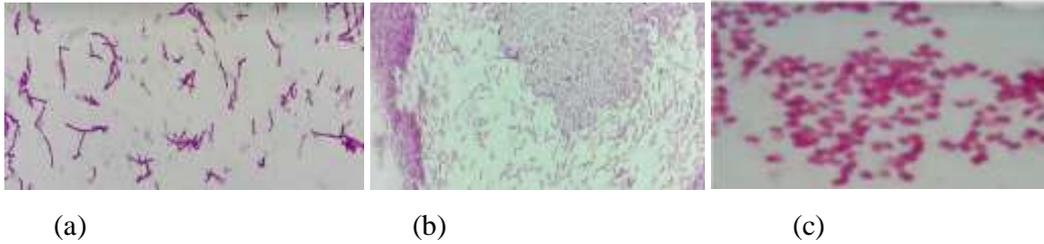


Figura 13. capturas de imágenes en microscopio de las cepas sospechosas (a) bacilos positivos con endosporas característico de *Pseudomonas*, (b) bacilos positivos característicos de *Bacillus* (c) cocos característicos de *Azotobacter*; laboratorio Inía, (enero 2019.)

c) Pruebas Bioquímicas

- Prueba de la oxidasa,

Fundamento de esta prueba es demostrar la presencia de enzimas oxidasas. La reacción de la oxidasa se da gracias a la presencia de un conjunto de citocromo oxidasa que realiza la oxidación del citocromo el cual es reducido por el oxígeno molecular desarrollándose agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana. (Fernandez , et al, 2010)

Procedimiento, Utilizamos tiras de papel impregnadas con el reactivo para-amino-N-dimetil-anilina, que se oxida por la citocromo-oxidasa. El procedimiento consiste en impregnar una colonia sospechosa a la zona coloreada de la tira reactiva. De la marca Bactident® Oxidasa | 113300 - Merck Millipore. El resultado es positivo cuando la tira cambia de color a azul.



Figura 14. Prueba de oxidasa, (a) prueba oxidasa marca Bactident® Oxidasa| 113300 - Merck Millipore (b) prueba para *Pseudomona* resultando positivo (c) prueba positiva para *Bacillus* (d) prueba positiva para *Azotobacter*. laboratorio INIA, (enero 2019)

- Prueba de catalasa.

Fundamento, La catalasa es un enzima que esta en los microorganismos que tienen citocromos. Las bacterias que degradan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso que se representa en forma de burbujas. (Fernandez, et al; 2010)

Procedimiento, Con un asa de siembra se tomó una colonia pura de 24 a 48 h de incubación y se extendió sobre una lámina portaobjetos. Luego se adiciono una gota de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%. La reacción de burbujas indicó la liberación de O<sub>2</sub> característico de un resultado positivo de acuerdo con (Guzmán, et al; 2012)

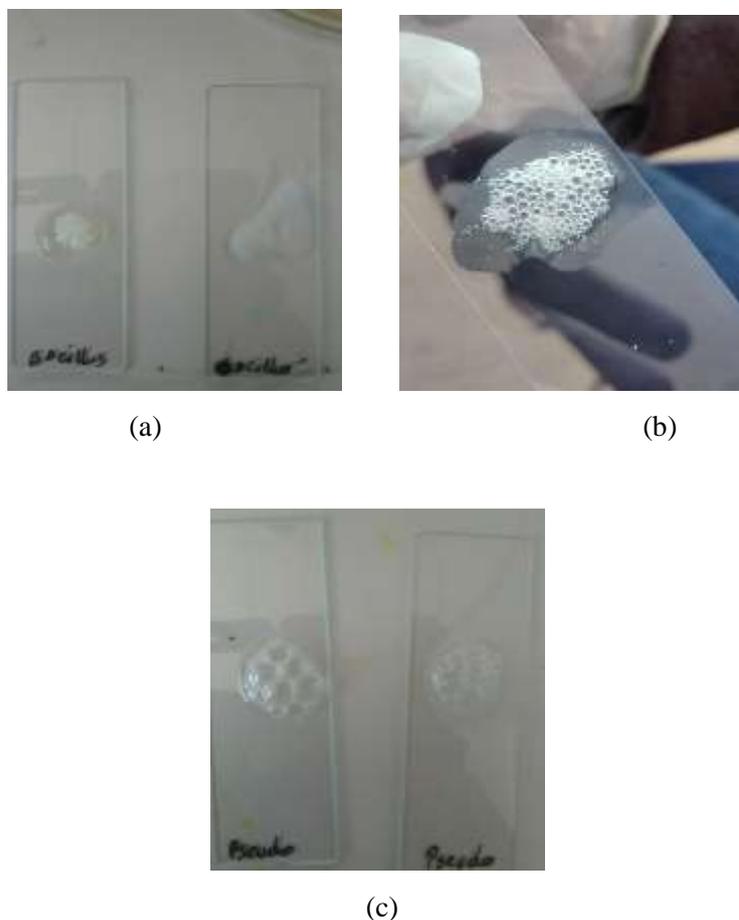


Figura 15. prueba de catalasa (a) *Bacillus* (b) *Azotobacter* (c) *Pseudomonas*, laboratorio INIA (enero 2019).

- Utilización de citrato,

Fundamento: determina si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para el metabolismo y crecimiento, provocando alcalinidad. El medio incluye citrato de

sodio, un anión como única fuente de carbono y fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno. (Bailon, et al; 2003)

Procedimiento, se tomó una colonia bien aislada de la superficie del medio de aislamiento primario y se inocula como una estría única en la superficie del pico de flauta. Tiempo de incubación 24 horas Temperatura de crecimiento 35 - 37° C. se observa crecimiento y medio de color verde. (figura 16).



Figura 16. prueba de citrato, laboratorio INIA, (enero 2019).

- Agar Gelatina

Fundamento, observar si un microorganismo puede producir enzimas de tipo proteolítico es decir gelatinasas que van a dar como resultado licuar el medio de solido a líquido. (Bailon, et al;2003).

Procedimiento, se inoculó una colonia de la muestra y se deja en la incubadora, la digestión de la gelatina (licuefacción). Tiempo de incubación 24 horas a temperatura 35 - 37 ° C se reporta Positivo cuando él esta licuado (estado líquido)



(a)

(b)

Figura 17. prueba de gelatina (a) y (b), laboratorio INIA, (enero 2019).

- Prueba de SIM

Fundamento, este método demuestra la capacidad del triptófano que es un aminoácido que es oxidado por algunas bacterias para que puedan formar metabolitos como el indol, escatol e indolacético.

Ver si un organismo puede ser móvil o no y si es capaz de liberar ácido sulfhídrico por la acción de las enzimas que contienen azufre que realiza una reacción la cual demuestra un halo de color negro en el medio de cultivo.

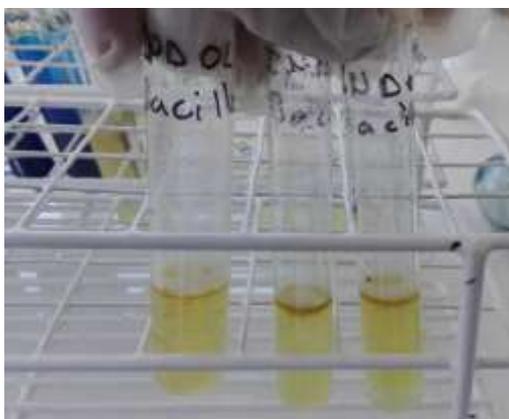


Figura 18. prueba SIM, laboratorio INIA, (enero 2019).

- Prueba Movilidad

Fundamento, determina si un organismo es móvil o inmóvil.

Procedimiento sembrar las colonias sospechosas por un tiempo: 24 - 48 horas a temperatura 35 - 37° C, Adicionar 5 gotas de reactivo de Kovács y agitar suavemente el tubo Interpretar inmediatamente. Se reporta Indol Positivo con la formación de un anillo rojo en la superficie del medio y negativa cuando no se produce color.



(a)



(b)

Figura 19. prueba de INDOL (a) y (b). laboratorio INIA, (enero 2019).

dilución de muestra para cultivo, se obtuvo la cantidad de 10 g de suelo de cada una de las muestras recolectadas, se diluyeron en 90 ml de agua destilada estéril, a partir de esta muestra madre después se prepararon soluciones seriadas en agua destilada estéril en base a las muestras de suelo se hicieron diluciones de hasta  $10^{-5}$  y tanto los aislados obtenidos a partir de raíces y suelo se sembraron en placas de Petri con medio específico a partir de cada una de estas diluciones se sembró por duplicado las muestras con método de superficie en los medios agar selectivos nutritivo, (Álvarez , 2015)

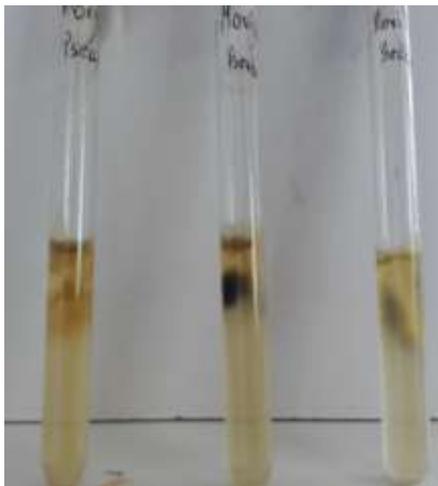


Figura 20. Prueba de movilidad, laboratorio INIA, (enero 2019).

- Prueba de hidrólisis de almidón

Fundamento, la estructura del almidón se puede degradar con el empleo de enzimas del tipo endoamilasas, exoamilasas.

Procedimiento, de cada una de las cuatro muestras incubadas, se pesó 10 g de suelo y se hizo una disolución con 90 mL de solución salina fisiológica estéril, luego fue sometida a calor de  $80^{\circ}\text{C}$  por 20 min; se adicionó el reactivo de Lugol hasta cubrir toda la superficie. Los cultivos bacterianos con capacidad de hidrólisis del almidón fueron reconocidos por la observación de un halo de hidrólisis de almidón alrededor de la colonia. (figura 21). (LLenque, 2011).

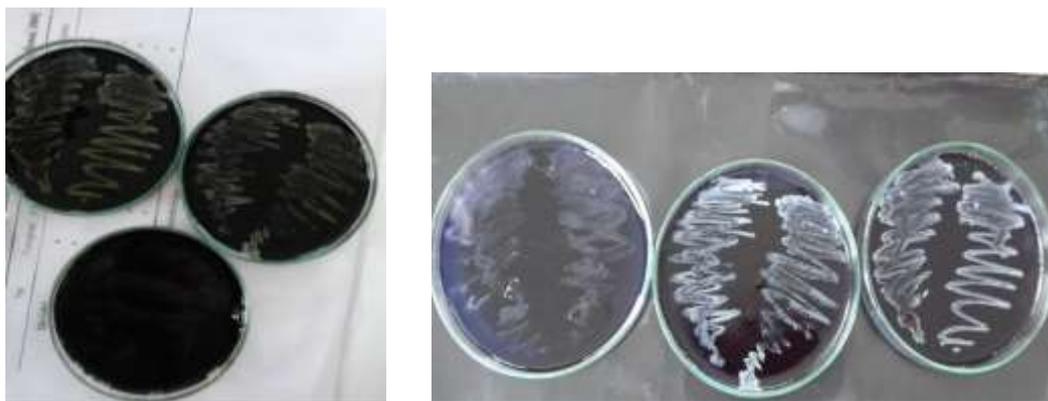


Figura 21. Prueba de degradación de almidón, laboratorio Inía, (enero 2019).

- Prueba de fluorescencia

Fundamento, la microscopía de fluorescencia se basa en los mismos principios de óptica de la microscopía común, con diferencias en el manejo y el diseño relacionadas con la generación y transmisión de longitudes de onda adecuadas a los fluorocromos que se quieren visualizar, ya sean propios de la muestra o de la coloración utilizada (Franco Cardoza, 2005)

Procedimiento, los procesos de excitación generalmente requieren longitudes de onda cortas en el UV cercano (lámpara de halógeno-cuarzo, arcos de mercurio, etc.). se llevó a ambiente oscuro la caja Petri con las bacterias cultivadas, (Sánchez & Montoya, 2012)



Figura 22. Prueba de fluorescencia para los cultivos de bacterias, laboratorio INIA, (enero 2019).

### 3.3.1.2. Descripción detallada de los equipos y materiales

- Los equipos utilizados en este objetivo fueron Destilador de agua, Autoclave, Incubadora, Balanza analítica, Microscopio biológico óptico, Vortex Vantage Pro2
- Reactivos que se utilizó Agar nutriente. Agar *azotobacter*, Agar *pseudomona*, pruebas bioquímicas de glucosa, Prueba bioquímica de catalasa, Tinción gram, Agar sim, Agar almidón, Citrato, Prueba oxidasa, Prueba de indol, agua destilada.

- Materiales de laboratorio; Pipeta, Papel aluminio, Cristalería (Erlenmeyer, Matraces, Baker), Cajas Petri, tubos de ensayo Picos, Palas, caja de Tecnopor, bolsas con cierre hermético

### 3.3.1.3 Variables que se Analiza

Las variables que se analizan en este objetivo son: variable dependiente especies identificadas y variable independiente zonas de muestreo

### 3.3.1.4 Prueba Bioestadística

Para el análisis estadístico en esta prueba se utilizó el software Excel el cual describen cual es la diferencia de población de bacterias entre Ilave - Camicachi e INIA – Salcedo y la identificación de cada una de las especies verificados por las pruebas de bioquímica

### 3.3.2, Cuantificación de bacterias solubilizadoras de fosfatos y potasio y fijadoras de nitrógeno en suelos de INIA salcedo e Ilave Camicachi del distrito de puno

#### 3.3.2.1 Frecuencia y Muestreo

El muestreo se realizó por el método aleatorio simple o al azar con 3 repeticiones para cada punto de muestro, esto en una sola ocasión antes de realizar el sembrío de la quinua y por ende el inculo de bacterias.

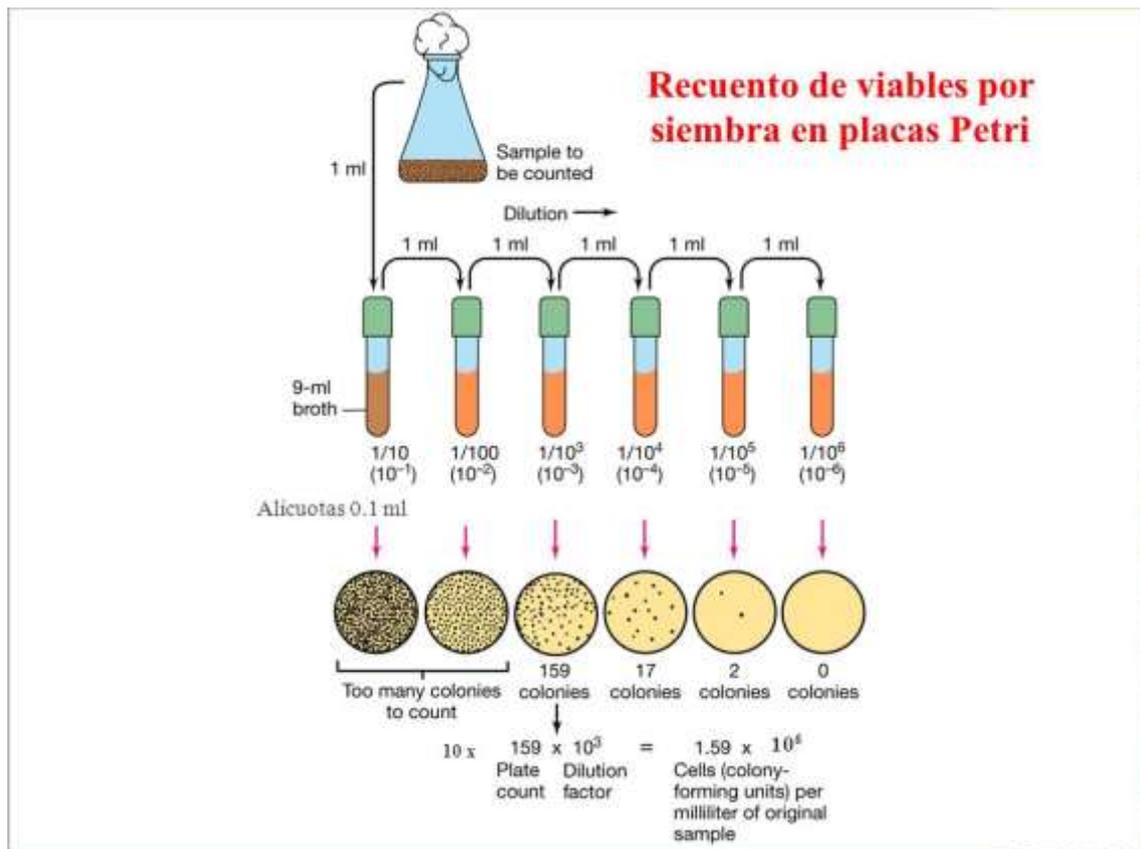


Figura 23. Diluciones seriadas de muestras de suelo para cultivo y posterior recuento, (Pérez, et al, 2014)

Fundamento, La técnica se basa en contar las “unidades formadoras de colonias” o UFC presentes en un g o ml de muestra (Camacho *et al.*, 2009). fue dada por conteo directo de unidades formadoras de colonias en placas. Durante el conteo se observaron y seleccionaron colonias que se distinguían en cuanto a forma, aspecto de la superficie, color y tamaño. Los morfotipos seleccionados fueron purificados y mantenidos en agar nutritivo, pseudomonas y Azotobacter para su posterior evaluación in vitro de la actividad solubilizadora de fosfato y fijadora de nitrógeno según (Pérez, et al; 2014)

Procedimiento, el método de muestreo fue aleatorio simple o al azar, (figura 6) se emplea en casos en los que se dispone de poca información acerca de las características de la población a medir, se aplicó la metodología de diluciones seriadas, realizada por (Tejera , et al, 2013), para esto la muestra de suelo ya tendría que estar tamizada una vez hecho esta acción se procedió a pesar en la balanza analítica de precisión 1 g del suelo y se adicionó a un tubo de ensayo que contenía 9 ml de solución salina (NaCl al 0,85%), se agitó manualmente por un periodo de un minuto. Seguidamente se obtuvo diluciones decimales seriadas desde  $10^{-1}$  hasta llegar a  $10^{-5}$ , se sembraron 0,1 ml por diseminación mediante asa de Drigalsky en el medio agar nutritivo, para así posteriormente contar en toda la placa las unidades formadoras de colonias (UFC/g). Una vez

terminada el conteo de colonias se multiplica por el total de la dilución que en este caso sería de  $10^{-5}$  (x 100000).

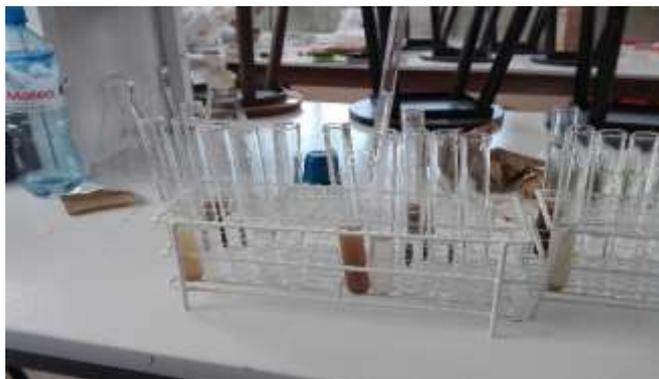


Figura 24. Dilución de muestras de suelo. Laboratorio INIA, (enero 2019).

Para calcular el número de bacterias se aplica la siguiente fórmula:

$$\text{UFC/ml o UFC/g} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de colonias por placa} \times \text{El factor de dilución}}{\text{ml de la muestra sembrada}}$$

### 3.3.2.2 Descripción de los equipos y Materiales

- Los equipos que se utilizaron en este objetivo fueron cámara de flujo laminar, estufa Destilador de agua, Autoclave, Incubadora, Balanza analítica, Microscopio biológico óptico
- Reactivos, Agar nutriente, Agar Azotobacter, Agar *Pseudomona*
- Materiales de laboratorio, Pipetas, Papel aluminio, Cristalería (Erlenmeyer, Matraces, Baker), Cajas Petri

### 3.3.2.3 Variables que se Analizan

En este objetivo las variables fueron: variable dependiente número de colonias de recuento de placa y la independiente fueron las zonas de muestreo

### 3.3.2.4 Prueba estadística

Para este objetivo se utilizó el software estadístico de infostat en el cual se desarrolló la prueba de T de student para muestras independientes, para determinar si hubo diferencia entre las zonas de muestreo, Tukey para confirmar y también Excel para determinar el coeficiente de variación.

3.3.3 Evaluar el efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio y fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad INIA SALCEDO en parcelas demostrativas del INIA Salcedo del distrito de Puno.

#### 3.3.3.1 Frecuencia y Muestreo

Preparación del suelo, se realiza un riego abundante y largo, en el campo elegido, para que la germinación de semillas sea buena y no compita con malezas ni con cultivos anteriores, Esta actividad hace que la quinua tenga una fase inicial de establecimiento sin competencia con malezas. El riego proporciona la humedad requerida para una buena preparación de suelo y ayudará a controlar insectos de suelo (Gómez & Aguilar, 2017).



(a)



(b)

Figura 25. Preparación del suelo (a) antes de preparado (b) después de preparado, parcelas INIA Salcedo, (enero 2019).

En la tierra previamente preparada se realizó la siembra de las semillas inoculadas,

- Preparación de concentración de bacterias para inoculo

Cada cepa nativa de *Azotobacter spp* de *Bacillus subtilis* y de pseudomona se sembró respectivamente en sus medios de cultivo ya antes mencionados con la biomasa desarrollada se obtuvieron suspensiones de solución salina estéril cuya concentración fue de  $3 \times 10^{-8}$  cuya concentración se estandarizo por la técnica de MAC FARLAND (Paola et al., 2012) para proceder a juntarla con la melaza para su posterior siembra .



(a)

(b)

(c)



(d)

(e)

Figura 26. Preparación del inóculo a partir de las cepas ya aisladas e identificadas medidas por MACFARLAND (a) *Bacillus subtilis* (b) *Azotobacter* spp (c) *Pseudomonas fluorescens* (e) MACFARLAND (d) solución de bacterias. Laboratorio INIA, (enero 2019).

- Inóculo de bacterias a semillas,

La metodología descrita a continuación se aplicó para cada género de bacteria aislado. En 3 Erlenmeyer de 125mL de capacidad se adicionaron 50mL de medio líquido a base de melaza pura al 20% respectivamente, con un pH ajustado en 7 y sellados con tapones de algodón estéril. Luego se agregó el inóculo previamente preparado (Rodríguez & Hernández, 2009)



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 27. Aplicación de inoculo de solución bacteriana a semillas de quinua (a) melaza (b) adición de melaza a semillas de quinua (c) adición de semillas con melaza a solución de bacterias (d) extendido de semillas, laboratorio INIA, enero 2019.

- Método de siembra

Se realizó el método de siembra directa, debe ser realizada inmediatamente de concluida la preparación del suelo. De esta forma las semillas dispondrán de humedad adecuada y se reducirá la competencia con malezas.

Siembra manual, Surcado: Se recomienda el sistema de siembra en surcos porque facilita la realización de una serie de labores culturales que se aplican durante el cultivo.



Figura 28. siembra de las semillas inoculadas, parcelas INIA Salcedo, (enero 2019).

Los estudios del efecto de los aislados en quinua en condiciones no controladas se llevaron a cabo mediante experimentos in situ, en una parcela experimental de 10m por 25m. Los experimentos en condiciones no controladas se realizaron utilizando un diseño experimental totalmente aleatorizado con 03 réplicas y 5 repeticiones, se monitoreo la temperatura, humedad relativa, riego, incidencia de plagas y el sustrato a aplicar. Se monitoreo el crecimiento cada semana (figura 38, 39, 40, 41).

Sin inóculo variedad INIA SALCEDO			Con inóculo variedad INIA SALCEDO		
Repetición 1	Replica 2	Replica 3	Repetición 1	Replica 2	Replica 3
Repetición 2	Replica 2	Replica 3	Repetición 2	Replica 2	Replica 3
Repetición 3	Replica 2	Replica 3	Repetición 3	Replica 2	Replica 3
Repetición 4	Replica 2	Replica 3	Repetición 4	Replica 2	Replica 3
Repetición 5	Replica 2	Replica 3	Repetición 5	Replica 2	Replica 3
Sin inóculo variedad PASANKALLA			Con inóculo variedad PASANKALLA		
Repetición 1	Replica 2	Replica 3	Repetición 1	Replica 2	Replica 3
Repetición 2	Replica 2	Replica 3	Repetición 2	Replica 2	Replica 3
Repetición 3	Replica 2	Replica 3	Repetición 3	Replica 2	Replica 3
Repetición 4	Replica 2	Replica 3	Repetición 4	Replica 2	Replica 3
Repetición 5	Replica 2	Replica 3	Repetición 5	Replica 2	Replica 3

Figura 29. Esquema de siembra de semillas inoculadas, esquema elaboración propia, (enero 2019).

Se realizo monitoreos todas las semanas cada 3 días. Evaluamos a partir de los 120 días de la siembra se evaluó la altura de la planta, número de hojas, tamaño de raíz y diámetro de tallo del tallo. A los 120 días en la etapa de botón floral después de la siembra se evaluaron los parámetros morfológicos y biomasa total del cultivo y se tomaron 5 muestras de cada una de las repeticiones en total se evaluaron 300 muestras de plántulas de quinua en ambas especies (Álvarez, 2015).

### 3.3.3.2 Descripción de equipos y materiales

- Para este objetivo se utilizaron los siguientes equipos una pala, un pico. Prueba de MacConkey, estufa, incubadora, balanza analítica, escalímetro.
- Los siguientes reactivos e insumos agua destilada, melaza, quinua variedad Pasankalla y variedad INIA Salcedo
- Los materiales de laboratorio placas Petri, tubos de ensayo aza de siembra envases estériles, gaza, papel toalla.

### 3.3.3.3. Variables que se utiliza

Las variables consideradas en este objetivo fueron variables dependientes crecimiento del tallo, longitud del tallo, número de hojas, crecimiento de la raíz; y variable independiente el inóculo de concentración de bacterias a la  $10^{-4}$  según la escala de McFarland.

### 3.3.3.4. Pruebas estadísticas

Las pruebas estadísticas utilizadas se realizaron en el software estadístico infostat la prueba de T de student para variables independientes y Tukey para determinar si existió diferencia significativa entre las plántulas sin inóculo y las plántulas con inóculo.

3.3.4. Evaluar el efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio y fósforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad quinua roja o Pasankalla en parcelas demostrativas del INIA Salcedo del distrito de Puno,

#### 3.3.4.1. Frecuencia y Muestreo

Se realizó el mismo procedimiento anterior, en este caso solo se cambió de variedad de quinua a Pasankalla o quinua roja.

Los estudios del efecto de los aislados en quinua en condiciones no controladas se llevaron a cabo mediante experimentos in situ, en una parcela experimental de 10m por 25m. Los experimentos en condiciones no controladas se realizaron utilizando un diseño experimental totalmente aleatorizado con 03 réplicas y 5 repeticiones, se monitoreó la temperatura, humedad relativa, riego, incidencia de plagas y el sustrato a aplicar.

Evaluamos a partir de los 120 días de la siembra se evaluó la altura de la planta, número de hojas, número de tallos y grosor del tallo. Estos monitoreos se realizaron todas las semanas cada 3 días. A los 120 días en la etapa de botón floral después de la siembra se evaluaron los parámetros morfológicos y biomasa total del cultivo y se tomaron 5 muestras de cada una de las repeticiones

y se evaluó el número de hojas el tamaño de talo el tamaño de raíz .(Álvarez Rodríguez, 2015) y se realizó la biometría de las muestras recolectadas (figura 42, 43)

#### 3.3.4.2 Descripción de equipos y materiales

- Para este objetivo se utilizaron los siguientes equipos una pala, un pico. Prueba de MacConkey, estufa, incubadora, balanza analítica.
- Los siguientes reactivos e insumos agua destilada, melaza, quinua variedad Pasankalla y variedad INIA Salcedo
- Los materiales de laboratorio placas Petri, tubos de ensayo aza de siembra envases estériles, gaza, papel toalla.

#### 3.3.4.3. Variables que se utiliza

Las variables consideras en este objetivo fueron variables dependientes crecimiento del tallo, longitud del tallo, numero de hojas, crecimiento de la raíz; y variable independiente el inculo de concentración de bacterias a la  $10^{-4}$  según la escala de McFarland.

#### 3.3.4.4. Pruebas estadísticas

Las pruebas estadísticas utilizadas se realizaron en el software estadístico infostat la prueba de T de student para variables independientes y Tukey para determinar si existió diferencia significativa entre las plántulas sin inculo y las plántulas con inculo.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4. 1 Identificación bioquímica de bacterias biofertilizantes (solubilizadoras de fosfato y potasio y fijadoras de nitrógeno) en suelos de INIA Salcedo y Camicachi del distrito de Ilave

Se logro aislar e identificar 3 géneros de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en las muestras de suelo en cultivos de papa, este tipo de suelo son alcalinos (Tabla N°4), la identificación se realizó mediante pruebas bioquímicas tal como se muestra en el Tabla N°9 las bacterias identificadas son *Pseudomona flourescens*, *Pseudomona putida*, *Bacillus subtilis* y *Azotobacter spp.*

Tabla 4. Pruebas bioquímicas hechas para la identificación de las especies bacterianas promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), elaboración propia, febrero 2018.

Muestreo	Salcedo									Ilave								
	<i>P. flourescens</i>			<i>B. subtilis</i>			<i>Azotobacter sp.</i>			<i>P. putida</i>			<i>B. subtilis</i>			<i>Azotobacter sp.</i>		
Repeticiones	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Florescencia	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Catalasa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Oxidasa	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
Tinción Gram	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Agar SIM	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Agar Almidón	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Citrato	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Gelatina	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-

\*donde R1, R2,R3 son repeticiones, (+) resultado positivo y (-) resultado negativo.

Se hicieron diferentes pruebas bioquímicas con 3 repeticiones de las cuales se observa que los resultados obtenidos concuerdan con las siguientes Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: *Pseudomona flourescens*, *Bacillus subtilis*, *Azotobacter sp.* Y *Pseudomona putida*. De entre ellas la diferencia entre las Pseudomonas es la licuefacción de la gelatina sienta positiva para *Pseudomona flourescens* y negativa para *Pseudomona putida*. Estos resultados concuerdan con (Llenque, 2015) el cual menciona que la *Pseudomona flourescens* es citrato positivo ya que verifíco el viraje de color verde a azul, en cuanto a la prueba SIM se comprobó la presencia de flagelo, para la prueba de citocromo oxidasa se comprobó la descomposición del peróxido de

hidrogeno en agua y oxígeno, pero la prueba diferencial entre *Pseudomona flourescens* y *Pseudomona putida* se da con la prueba de la gelatina en la cual la *Pseudomona flourescens* produce licuefacción de la gelatina. Por otro lado, las cepas con esporas centrales, catalasa positiva, citocromo oxidasa negativa, citrato positivo, hidrolisis de almidón positiva e hidrolisis de gelatina positiva corresponden a las características de *Bacillus subtilis* según (Carolina, *et al*, 2010) y (Cuervo, 2010). Sin embargo, para la identificación de *Azotobacter sp* se evaluó las pruebas de glucosa, sacarosa, manitol, glicerol, benzoato, indol, catalasa tal como lo indica (Flores, *et al*, 2012), (Escobar, *et al*, 2011) y (Jiménez, 2007) de las cuales las pruebas de indol, catalasa, oxidasa concuerdan con los resultados de esta investigación.

El género *Bacillus* ha sido reportado por, (Calvo & Zúñiga, 2010) en cultivos de papa, (Márquez y Torres, 2007) en suelos de un bosque de pinos, mientras que (Corrales Ramírez, *et al*. 2014) logra aislarlos de rizosferas de diferentes plantas, los cuales concuerdan en que este género está presente en la rizosfera de diversos cultivos debido a su capacidad de formación de esporas que le da una ventaja de supervivencia en la rizosfera vegetal, sin mencionar su capacidad solubilizadora de fosfatos (Pérez, *et al*, 2015) reporta 35 bacterias en la rizosfera de plantas de vainilla dentro de los cuales se encuentran el género *Bacillus* como degradadores de celulosa y solubilizadores de fosfato inorgánico y *Pseudomonas* como proteolíticos/amonificantes, además de fijadores biológicos de nitrógeno, esta última bacteria también es reportada por (Alarcón, 2010) al lograr aislarla de raíces secundarias de plantas de uchuva, (Guerra *et al*, 2011) en lotes de arveja y (Uribe *et al*, 1999) en cultivos de papa. En cuanto al género *Azotobacter* (Goitia, 2014) señala que en suelos alcalinos se pueden aislar bacterias del género *Azotobacter spp*. Las cuales son gram negativas de formas ovaladas, catalasas positivas. (Jiménez, 2007), (Escobar, *et al*, 2011), (Valderrama, 2010) y (Flores, *et al*, 2012) logran aislarlo de suelos rizosferas con el agar ASHBY. Por otro lado, (Lara, *et al*, 2013) lograron aislar 9 cepas bacterianas de las cuales algunas contrastan con los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, *Pseudomonas flourescens* y *Bacillus sp*. Estas especies son comúnmente aisladas según (Sancllemente, 2017) puesto que son solubilizadoras de fosfato.

En cuanto al indol, mediante esta prueba se detecta la liberación de indol en un cultivo bacteriano. La prueba que define las especies entre el género *Pseudomonas* en este trabajo es la prueba de hidrólisis de gelatina tal como lo menciona (Llenque, 2015) esta prueba muestra la capacidad de ciertos microorganismos para hidrolizar la gelatina y volver el medio de solido a liquido (Fernandez Olmos, *et al*. 2010), otra de las pruebas determinantes es la utilización del citrato esta prueba sirve para determinar si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono (Escobar, *et al*; 2011)

Para la identificación de las cepas se realizaron algunas de estas pruebas bioquímicas ya descritas las cuales se contrastan

Estas bacterias identificadas pertenecen al grupo de promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) y estas mismas representan aproximadamente del 2-5% del total de rizobacterias involucradas en la promoción de crecimiento. Estos mecanismos se pueden activar simultánea o independientemente en diferentes etapas de desarrollo de la planta. Entre estos mecanismos se encuentran la solubilización de fósforo, la fijación biológica de nitrógeno, la absorción facilitada de otros nutrientes y la producción de fitohormonas (León, 2001) Además, permiten el control biológico de patógenos y microorganismos nocivos, mediante la producción de antibióticos, enzimas líticas, cianuro de hidrógeno y sideróforos, o mediante la competencia por nutrientes y espacio, tienen un efecto en la salud y el desarrollo de las plantas, presentándose un mejor crecimiento de plántulas, un mayor vigor y rendimiento (Ahemad y Saghir, 2010).

La importancia de estos microorganismos yace en que pueden promover el crecimiento y la productividad de las plantas el cual sería su efecto principal, pero también se ha demostrado que desempeñan un papel en la reducción de enfermedades como efecto secundario, y existen casos en las que se presentan situaciones inversas los agentes de control biológico, pueden controlar enfermedades, Se dice que tienen un efecto aditivo, por lo que sus beneficios multifacéticos pueden ayudar a reducir los problemas asociados al uso de productos químicos sintéticos en la agricultura (Avis, et al; 2008). Por ejemplo, (Brito, 2014) menciona que *Bacillus subtilis* es un microorganismo autóctono del suelo que a diferencia de *Escherichia coli*, prospera en la naturaleza, donde se encuentra ampliamente distribuido en muy diversos hábitats, los cuales ha colonizado eficientemente debido a sus cualidades. *Bacillus subtilis* no es potencialmente patógena, no produce endotoxinas y secreta proteína al medio, algunas de ellas con propiedades antifúngicas, como la subtilina y otros antibióticos de la familia de las iturinas. Se utiliza industrialmente como insecticida y fungicida. La subtilina liberada por *Bacillus subtilis* actúa sobre la pared celular de hongos. Otro punto vital es el estudio del genoma de *Bacillus subtilis*, que es un organismo modelo de las bacterias gram-positivas. (Lisboa, 2003).

Según estación meteorológica (inalámbrica) marca Vantage Pro2 (figura n°5) Que se encuentra en la estación experimental del INIA las parcelas cuentan con una temperatura ambiente mensual en enero de 11.5 °C en febrero de 10.2°C en marzo 10.5°C, abril con 9.74°C con picos de 19.7°C como temperatura máxima y 0.7°C de temperatura mínima, con precipitación de 217.79 mm en enero, 120.51mm en febrero 83.71mm en marzo, 54.05mm en abril, 17.5mm en marzo, humedad relativa en los cuatro meses de 70,92 %; evaporación media de 111,33 mm y una velocidad máxima del viento de 5,44 m s-1 y mínima de 3,64 m s-1.

#### 4.2 Cuantificación de bacterias solubilizadoras de fosfatos y potasio y fijadoras de nitrógeno en suelos de INIA salcedo y Camicachi del distrito de Ilave

El recuento de bacterias entre las dos localidades de muestreo no presento diferencia estadísticamente significativa ( $t = -0.28$ ;  $gl = 4$ ;  $p = 0.7646$ )  $p$  – valor es  $> 0.05$  con un valor de 0.76, por lo que se entiende que el número de bacterias son similares, los valores obtenidos (Tabla N° 5)

Tabla 5 Recuento de bacterias de los suelos de INIA Salcedo y Camicachi - Ilave, realizado en el laboratorio de biotecnología UNA - Puno. Tabla de elaboración propia, octubre 2019.

Centros Poblados		Promedio			Desviación estándar	C.V (%)
Repeticiones	Repetición	Repetición2	Repetición3			
INIA SALCEDO	22.25 x 10 <sup>5</sup>	24.75 x 10 <sup>5</sup>	34.00 x 10 <sup>5</sup>	27.00 x 10 <sup>5</sup>	6.19	22.92%
CAMICHACHI ILAVE	27.50 x 10 <sup>5</sup>	32.25 x 10 <sup>5</sup>	24.75 x 10 <sup>5</sup>	28.17 x 10 <sup>5</sup>	3.79	13.47%

El recuento obtenido para las dos muestras de suelo se considera alto, para este recuento se hizo 3 repeticiones en las cuales se obtuvieron en promedio 27.00 x 10<sup>5</sup> UFC/g para el suelo de INIA Salcedo y 28.17 x 10<sup>5</sup> UFC/g para el suelo de Camicachi – Ilave estos resultados contrastan con los de (Calvo *et al*, 2008) en la cual se observa que en la región de puno las poblaciones bacterianas oscilaban 31.5 x 10<sup>4</sup> UFC/g hasta 50.7 x 10<sup>4</sup> UFC/g para el género bacillus, mientras que para el género Azotobacter oscilan desde 75.2NMP hasta 90.2NMP, al igual que (Llanos, 2017) quien obtuvo un recuento de 1.23 x 10<sup>3</sup> hasta 2.40 x 10<sup>3</sup> en bacterias solubilizadoras de fosfato en la región de puno. Sin embargo, un recuento bajo frente a (Cary y Angulo, 2006) quienes realizaron como parte de su estudio recuentos de bacterias en suelos del altiplano boliviano encontrando recuentos de 7.06 Log UFC/g para las poblaciones bacterianas, (Brito, 2014) consideró un número limitado de colonias ya que éstas podían sobre poblarse, lo que dificultaría el conteo. El rango sugerido de acuerdo a la "Food and Drug Administration" (siglas en ingles FDA), es de 25-250 colonias por dilución en cada medio selectivo. Este método es preferible porque arroja el total de células vivas. Transcurridas 48 horas desde el momento del cultivo, se procedió a contar y a tipificar cada célula viva en los medios seleccionados.

(Pérez, 2014) afirma que en biofumigación existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p$ -valor  $< 0,05$ ). Los suelos tratados con Brassicas registran la mayor densidad de población de

bacterias antes de realizar el trasplante, valores muy superiores a los observados en los suelos tratados con Biofence®. El testigo, por el contrario, presenta valores próximos a cero, pero en biosolarización existen diferencias significativas entre tratamientos ( $p$ -valor  $< 0,05$ ). Los suelos tratados con Biofence® recogieron una mayor densidad de población bacteriana respecto de los suelos tratados con Brassicas, sin embargo, los valores son semejantes si son comparados con las muestras de suelo pertenecientes al Testigo donde se registraron valores de densidad de población 3 veces superior a los suelos tratados.

(Goitia, 2014) menciona a que posteriormente a los 10 días de cultivo, las triadas de tubos negativos a los siete días, realizaron el viraje de azul a un color amarillo, demostrándose así la presencia de una alta carga bacteriana de diazótrofos en las muestras de suelo cultivado, suelo virgen y humus de lombriz respectivamente.

El aislamiento de microorganismos en medios libres de nitrógeno, constituye un primer paso hacia la identificación de bacterias con capacidad para metabolizar nitrógeno. El análisis del número y tipo de microorganismos identificados en estos medios brinda información valiosa acerca de la distribución de microorganismos potencialmente promotores del crecimiento vegetal de las semillas de quinua en los diferentes sitios muestreados.

Teniendo en cuenta que los suelos de los cuales se aisló y se realizó el recuento (tabla 5) posee un pH de 7.5 en el cual las bacterias buscadas pueden desarrollarse en condiciones óptimas. existió diferencia en el recuento en el suelo recolectado del distrito de Camicachi se encontró mayor cantidad en el recuento de colonias que en el de las parcelas de INIA Salcedo, aunque no existe una diferencia estadísticamente significativa.

#### 4.3 Efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio y fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad INIA Salcedo en parcelas demostrativas del INIA Salcedo del distrito de Puno.

##### 4.3.1 Altura de la planta (cm)

Se observa la diferencia en los surcos 1,2 y 3 que corresponden al tratamiento control poseen una media de 9.75cm mientras que en los surcos 4,5 y 6 que corresponden al tratamiento con inoculo de bacterias poseen una media de 22.80cm a pesar que esta tiene 4 muestras menos que el tratamiento control, la diferencia de medias es de 13.05cm. Al realizar la prueba T de student se obtiene  $p$ -valor  $< 0.0001$  por lo que se dice que la diferencia es significativa estadísticamente hablando para contrastar estos resultados se hizo a la par la prueba de Tukey obteniendo al igual que en la prueba anterior un  $p$ -valor  $< 0.0001$  y dos grupos diferentes para Tukey lo que demuestra la significancia entre estos tratamientos, (Figura N°30).

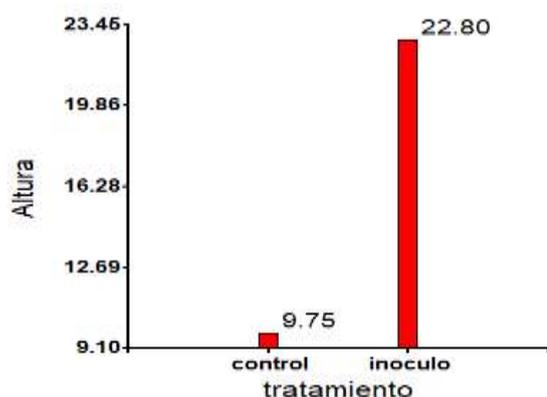


Figura 30. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en altura de la quinua variedad Salcedo INIA. Histograma estadístico elaborado en Infostat, (octubre 2019).

Los resultados obtenidos están en concordancia con los (Lara *et al*, 2013) en cuanto a la altura de planta, puesto que los tratamientos T1, T2, Y T3 (tratamientos con inóculos) obtuvieron mayor altura 48.7cm – 52.7cm mientras que los tratamientos control T0 Y T4 40.7cm – 42.13cm. Sin embargo (Lara *et al*, 2013), (Lara y Negrete, 2015) y (Lara *et al*, 2011) en sus trabajos no presentan una significancia estadística a pesar de que entre los tratamientos si existe una diferencia de tamaños.

Existen dos tipos de bacterias promotoras del crecimiento de las plantas que afectan el crecimiento vegetal, promueve el aumento de la toma de agua y también de nutrientes, el desarrollo del sistema radical y la estimulación del funcionamiento de otros microorganismos benéficos presentes Aunque esta propuesta parece no haber sido ampliamente aceptada (Sarabia *et al*, 2010). También (González. y Fuentes , 2017) en su trabajo Mecanismo de acción de microorganismos promotores de crecimiento de las plantas nos indica cómo actúan los diferentes microorganismos promotores de crecimiento en plantas, afecta a las plantas ya que los microorganismos actúan con un metabolismo que es propio de cada una de las bacterias (solubilizando fosfatos, produciendo hormonas o fijando nitrógeno), los cuales darán como resultado directamente el metabolismo de la planta (incrementando la toma de agua y minerales), desarrollando así el desarrollo radicular, incrementan la actividad enzimática de la planta o propician que otros microorganismos benéficos actúen de mejor manera sobre las plantas

(Suresh *et al*, 2010) menciona que la bacteria *Pseudomonas fluorescences*, es una rizobacteria que promueve el crecimiento de plantas a través de sus múltiples actividades como antifúngicos de amplio contra hongos patógenos y solubilización de fosfatos. Por lo que al realizar estudios con dichos microorganismos los resultados indicaron que la mayoría de los aislados probados poseían rasgos de BPCV, por lo que se podrían ser utilizados como biofertilizantes potenciales y también como agentes de biocontrol

#### 4.3.2 Raíz (cm)

Los surcos 1,2 y 3 que corresponden al tratamiento control poseen una media de 8.50cm mientras que en los surcos 4,5 y 6 que corresponden al tratamiento con inoculo de bacterias poseen una media de 11.75cm, la diferencia de medias es de 3.25cm. Al realizar la prueba T de student se obtiene p-valor  $< 0.0001$  por lo que se dice que la diferencia es significativa estadísticamente hablando para contrastar estos resultados se hizo a la par la prueba de Tukey obteniendo al igual que en la prueba anterior un p-valor  $< 0.0001$  y dos grupos diferentes para Tukey lo que demuestra la significancia entre estos tratamientos, (Figura N°31).

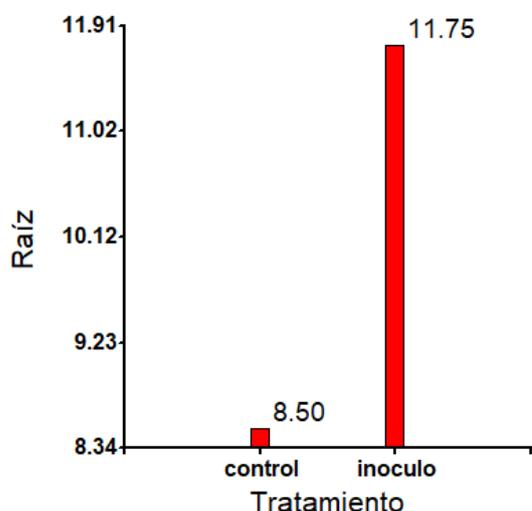


Figura 31. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la raíz de la quinua variedad Salcedo INIA. Histograma estadístico elaborado en Infostat. (octubre 2019).

Los resultados obtenidos están en concordancia con los de (Lara *et al.* 2013) (Lara y Negrete, 2015) quienes en sus trabajos reportan una diferencia significativa entre las raíces del control frente a los tratamientos, explican los autores que esto se debe quizá a la disponibilidad de fósforo y también a la posible presencia de fitohormonas (auxinas, giberelinas y citoquininas.) al igual que en nuestro trabajo de investigación posiblemente las auxinas : indol-3-ácido acético , indol-3-ácido butírico que tienen una gran influencia en el crecimiento de los vegetales, especialmente de la raíz. (Benjumeda Muñoz, 2017)

Por otro lado, existen referentes contradictorios como los de (Lara *et al.* 2011), (Lara Mantilla *et al.* 2013) los cuales mencionan en sus trabajos de investigación que no existe diferencia estadísticamente significativa a pesar de haber una diferencia cuantitativa.

La acción directa del crecimiento se da cuando las bacterias dan a las plantas de compuestos que estimulan su crecimiento (ya sea del vástago o de la raíz), cuando las bacterias facilitan la

disponibilidad de nutrimentos para las plantas como fijación del nitrógeno o la solubilización del fósforo; o cuando las bacterias estimulan en la planta resistencia localizada. (Cárdenas, 2005).

#### 4.3.3 Número de hojas

Se observa una diferencia en los surcos 1,2 y 3 que corresponden al tratamiento control poseen una media de 16.27 mientras que en los surcos 4,5 y 6 que corresponden al tratamiento con inoculo de bacterias poseen una media de 37.53 a pesar que esta tiene 4 muestras menos que el tratamiento control, la diferencia de medias es de 21.27cm. Al realizar la prueba T de student se obtiene p-valor  $< 0.0001$  por lo que se dice que la diferencia es significativa estadísticamente hablando para contrastar estos resultados se hizo a la par la prueba de Tukey obteniendo al igual que en la prueba anterior un p-valor  $< 0.0001$  y dos grupos diferentes para Tukey lo que demuestra la significancia entre estos tratamientos (Figura N°32).

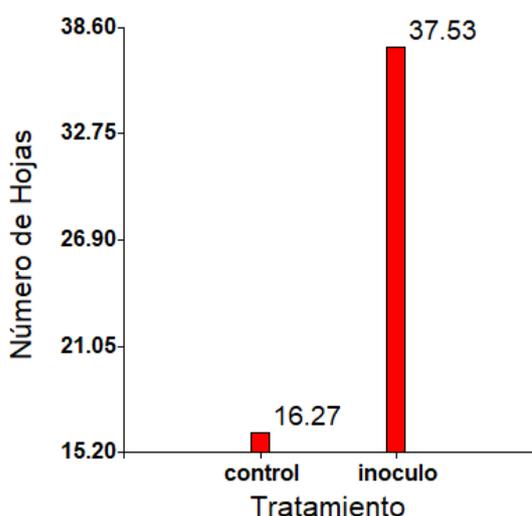


Figura 32. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el número de hojas de la quinua variedad Salcedo INIA. Histograma estadístico elaborado en infostat. (octubre 2019).

Los resultados obtenidos están en concordancia con los de (Lara y Negrete, 2015) puesto que muestra que el tratamiento T3 es superior al T1 obteniendo así una diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ). Contrariamente a este resultado está la de (Lara y Sanes, 2013) en el cual se indica que no existe una diferencia estadísticamente significativa a los 25 días ni a los 50 días.

Esto puede darse posiblemente ya que según (Benjumeda, 2017) *Bacillus* y *Pseudomonas* son las bacterias que solubilizan el fosfato utilizan diferentes mecanismos para convertir las formas insolubles de fósforo en formas solubles.

El uso de estos microorganismos en cantidades industriales como biofertilizantes en cualquier sistema de producción agrícola traería grandes beneficios, (Hernández y Escalona, 2003) en su trabajo de investigación da a conocer los efectos positivos en las plantas estos generalmente

proviene del extranjero pues se introducen microorganismos en nuestros sistemas de producción que están poco adaptados a los sistemas productivos del país.

#### 4.3.4 Diámetro del Tallo (cm)

Se observa una diferencia en los surcos 1,2 y 3 que corresponden al tratamiento control poseen una media de 0.12cm mientras que en los surcos 4,5 y 6 que corresponden al tratamiento con inoculo de bacterias poseen una media de 0.28cm a pesar que esta tiene 4 muestras menos que el tratamiento control, la diferencia de medias es de 0.16cm. Al realizar la prueba T de student se obtiene p-valor  $< 0.0001$  por lo que se dice que la diferencia es significativa estadísticamente hablando para contrastar estos resultados se hizo a la par la prueba de Tukey obteniendo al igual que en la prueba anterior un p-valor  $< 0.0001$  y dos grupos diferentes para Tukey lo que demuestra la significancia entre estos tratamientos, (Figura N°33).

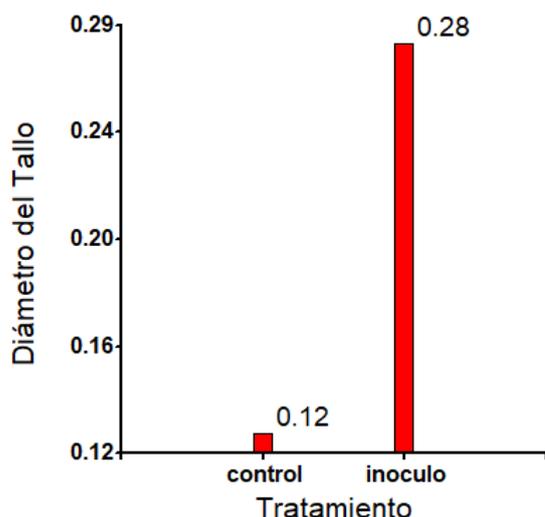


Figura 33. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el diámetro del tallo de la quinua variedad Salcedo INIA. Histograma estadístico elaborado en infostat. (octubre 2019)

Los resultados obtenidos están en concordancia con los de (Martínez *et al.* 2013) el cual reporta una diferencia estadísticamente significativa en 2 cultivos tomates y pimientos en donde se observa la diferencia entre los tratamientos MA 06, MA 04 y MA12 contrastados con una prueba de Tukey al igual que (Llanos, 2017) quien menciona que el tratamiento 1 presentó el mayor diámetro, notándose una claro crecimiento en el diámetro de los tratamientos frente al control. También (Sánchez, *et al.*; 2016) menciona en su trabajo de investigación efectividad de cepas de *Azotobacter sp.* y *Bacillus sp.* para el biocontrol de especies de hongos relacionadas a hortalizas que estas bacterias resaltan la fijación biológica del nitrógeno atmosférico y la producción de fitohormonas. por su resistencia ante condiciones ambientales adversas y por la producción de

una amplia gama de compuestos con actividad fungicida o fungistática. Las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos.

Para (Bazan, 2014) una planta bien provista de nitrógeno adquiere un buen desarrollo de hojas y tallos y toma un color verde intenso debido a la abundancia de clorofila. Una buena parte foliar bien desarrollada promueve crecimiento activo. Esto es respaldado por (Otsuka, 1963) quien propone que el papel del nitrógeno en la formación y la calidad de la cosecha está dado por la formación y desarrollo de las yemas florales y fructíferas y por el aumento en el contenido de proteína de la parte cosechada. Es necesario mantener un buen equilibrio entre el nitrógeno y el potasio, ya que cada uno de estos elementos favorece la acción del otro, (Taiz y Zeiger, 2006) mencionan que cuando esta carencia de nitrógeno ocurre, las plantas pueden presentar tallos muy delgados y leñosos que puede ser debido a la producción de un exceso de carbohidratos que no son utilizados en la síntesis de aminoácidos.

(Salisbury, 1994) afirma que, por esta razón, las plantas que sufren de deficiencia de N primero muestran síntomas de deficiencia en las hojas viejas. en tales hojas, la proteólisis resulta en un colapso de cloroplastos y una disminución del contenido de clorofila. por lo tanto, el amarillamiento de las hojas viejas es un primer síntoma de la inadecuada nutrición de N.

4.4 Efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio y fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad Pasankalla (quinua roja) en parcelas demostrativas del INIA Salcedo del distrito de Puno.

#### 4.4.1 Altura de la planta (cm)

Los surcos 1,2 y 3 que corresponden al tratamiento control poseen una media 13.12cm mientras que en los surcos 4,5 y 6 que corresponden al tratamiento con inoculo de bacterias poseen una media de 24.03cm a pesar que esta tiene 4 muestras menos que el tratamiento control, la diferencia de medias es de 10.91cm. Al realizar la prueba T de student se obtiene p-valor  $< 0.0001$  ( $T = -9.76$ ;  $gl = 133$ ) por lo que se dice que la diferencia es significativa estadísticamente hablando para contrastar estos resultados se hizo a la par la prueba de Tukey obteniendo al igual que en la prueba anterior un p-valor  $< 0.0001$  y dos grupos diferentes para Tukey lo que demuestra la significancia entre estos tratamientos, (Figura N°34).

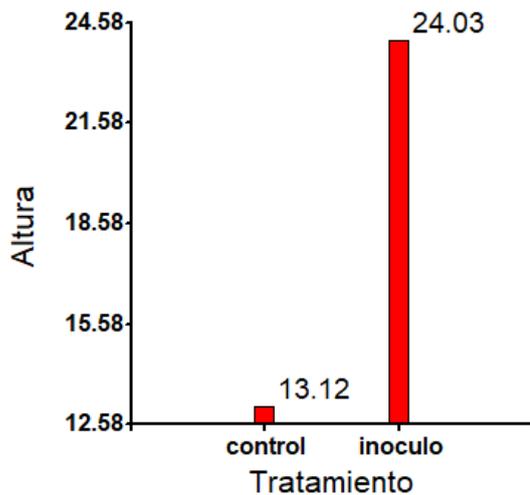


Figura 34, Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en altura de la quinua variedad Pasankalla. Histograma estadístico elaborado en infostat. Octubre 2019

Los resultados obtenidos están en concordancia con los (Lara y Alvarez, 2013) en cuanto a la altura de planta, puesto que los tratamientos T1, T2, Y T3 (tratamientos con inóculos) obtuvieron mayor altura 48.7cm – 52.7cm mientras que los tratamientos control T0 Y T4 40.7cm – 42.13cm. Sin embargo, (Lara y Sanes, 2013), (Lara y Negrete, 2015) y (Lara, Esquivel y Negrete, 2011) en sus trabajos no presentan una significancia estadística a pesar de que entre los tratamientos si existe una diferencia de tamaños.

El uso continuo de fertilizantes químicos y abonos para mantener la fertilidad de los suelos y la productividad de los cultivos, a menudo da lugar a inesperados efectos ambientales nocivos, (Adesemoye y Kloepper, 2009) Por lo que los sistemas de gestión de sistemas integrados de los nutrientes son necesarios para mantener la productividad agrícola y proteger el medio ambiente (Jiménez *et al.* 2001) afirma que existen casos exitosos como el producto elaborado por mexicanos, el cual se lanzó al mercado el 20 de septiembre del 2000, denominado PROBACIL que fue formulado en el laboratorio de Bioquímica ecológica en CINVESTAV-IPN unidad Irapuato, el cual contiene una bacteria promotora de crecimiento e inhibitoria de *Rhizoctonia* y *Fusarium* patógenos que atacan el cultivo de papa, a los cuales controla adecuadamente además de aumentar la productividad por hectárea.

Los resultados de esta investigación se apoyan con los obtenidos con (Goitia, 2014) en el que menciona que los tratamientos que presentaron mejores resultados en la emergencia de las plantas, el diámetro del tallo y la longitud de las hojas y los tallos fueron las inoculadas con las bacterias diazotórfas. Estos tuvieron diferencias significativas con respecto a las semillas testigo sin inoculación bacteriana, además se observó una mayor eficiencia en la emergencia y el crecimiento en las plantas de quinua. De acuerdo con el análisis estadístico de los datos las semillas inoculadas

presentaron valores por encima de la media y límite superior, con respecto a los otros aislados y controles.

#### 4.4.2 Raíz (cm)

Los surcos 1,2 y 3 que corresponden al tratamiento control poseen una media de 7.75cm mientras que en los surcos 4,5 y 6 que corresponden al tratamiento con inóculo de bacterias poseen una media de 9.80cm, la diferencia de medias es de 2.05cm. Al realizar la prueba T de student se obtiene p-valor  $< 0.0001$  ( $T = -4.08$ ;  $gl = 148$ ) por lo que se dice que la diferencia es significativa estadísticamente hablando, para contrastar estos resultados se realizó la prueba de Tukey obteniendo al igual que en la prueba anterior un p-valor  $< 0.0001$  y dos grupos diferentes para Tukey lo que demuestra la significancia entre estos tratamientos, (Figura N° 35).

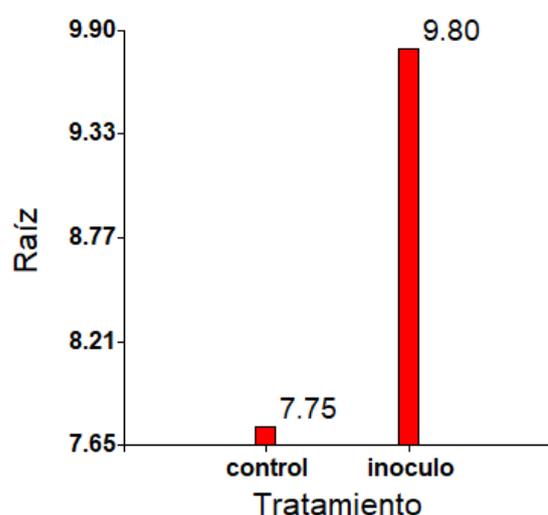


Figura 35. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la raíz de la quinua variedad Pasankalla. Histograma estadístico elaborado en Infostat, (octubre 2019).

Los resultados obtenidos están en concordancia con los de (Lara y Sanes, 2013), (Lara Negrete, 2015) quienes en sus trabajos reportan una diferencia significativa entre las raíces del control frente a los tratamientos, explican los autores que esto se debe quizá a la disponibilidad de fósforo y también a la posible presencia de fitohormonas. Por otro lado, existen referentes contradictorios como los de (Lara y Esquivel, 2011), (Lara y Álvarez, 2013) los cuales mencionan en sus trabajos de investigación que no existe diferencia estadísticamente significativa a pesar de haber una diferencia cuantitativa.

También se evaluaron diez aislados diferentes de BPCV extraídos de la rizósfera de suelos donde se cultiva arroz, dando como resultado la sugerencia del uso de tres aislados de Bacterias, los cuales incrementaron el crecimiento de arroz, además de que inducen la producción de ácido indol acético y solubilizan fósforo (Ashrafuzzaman *et al.* 2009), mientras que en maíz la inoculación

de BPCV aumentó significativamente nitrógeno y potasio en grano, mientras que en las hojas incrementaron fósforo y potasio (Yazdani *et al.* 2011).

(Goitia, 2014) propone que la elongación de la raíz podría atribuirse a la producción de algún metabolito bacteriano como el ácido indol acético (AIA). En las condiciones ensayadas, la inoculación no provocó en ninguno de los casos, un crecimiento significativo en el largo de la raíz en relación a las semillas no inoculadas. Algunos microorganismos capaces de producir AIA pueden perder esta capacidad por las condiciones en las cuales se encuentran, o que en vez de provocar el crecimiento de la raíz principal provoquen un aumento de Tratamiento Largo de la raíz (cm).

Según (Bazan, 2014) la planta absorbe el nitrógeno por medio de sus raíces en estado mineral ya sea nítrico o amoniacal. El nitrógeno se encuentra en el suelo en tres formas principales: orgánico, amoniacal y nítrico, que no tienen el mismo valor para la planta.

#### 4.4.3 Número de hojas

Se observa una diferencia en los surcos 1,2 y 3 que corresponden al tratamiento control poseen una media 21.68 mientras que en los surcos 4,5 y 6 que corresponden al tratamiento con inóculo de bacterias poseen una media de 34.33 a pesar que esta tiene 4 muestras menos que el tratamiento control, la diferencia de medias es de 12.65. Al realizar la prueba T de student se obtiene p-valor  $< 0.0001$  ( $T = -4.75$ ;  $gl = 148$ ) por lo que se dice que la diferencia es significativa estadísticamente hablando, para contrastar estos resultados se hizo la prueba de Tukey obteniendo al igual que en la prueba anterior un p-valor  $< 0.0001$  y dos grupos diferentes para Tukey lo que demuestra la significancia entre estos tratamientos, (Figura N°36)

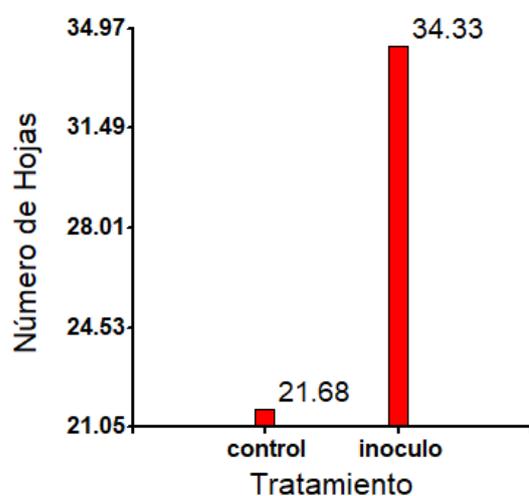


Figura 36. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el número de hojas de la quinua variedad Pasankalla. Histograma estadístico elaborado en infostat, (octubre 2019).

Los resultados obtenidos están en concordancia con los de (Lara y Negrete, 2015) puesto que muestra que el tratamiento T3 es superior al T1 obteniendo así una diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ). Contrariamente a este resultado está la de (Lara y Sanes, 2013) en el cual se indica que no existe una diferencia estadísticamente significativa a los 25 días ni a los 50 días.

Un elemento móvil en la planta que interviene en lo que llamamos tejidos jóvenes meristemáticos es el potasio y esta misma se traslada hacia estos puntos cuando ocurre una deficiencia. Como resultado de esto, los síntomas de deficiencia aparecen al principio en las hojas más bajas de las plantas, progresando hacia la parte superior conforme aumenta su deficiencia (Tisdale, 1991) y (Bazan Quintana, 2014).

Al evaluar el efecto del N en la relación entre el área foliar y la fructificación del melón (Nylund, 1954) encontró que una aplicación de 400 kg de N /ha de sulfato de amonio tuvieron efectos positivos incrementando el área foliar, el número de flores estaminadas y, más aún, el número de flores pistiladas, en comparación con aquellas sin fertilizar.

#### 4.4.4 Diámetro del tallo

Los surcos 1,2 y 3 que corresponden al tratamiento control poseen una media de 0.22cm mientras que en los surcos 4,5 y 6 que corresponden al tratamiento con inoculo de bacterias poseen una media de 0.37cm, la diferencia de medias es de 0.15cm. Al realizar la prueba T de student se obtiene p-valor  $< 0.0001$  ( $T = -6.24$ ;  $g_j = 137$ ) por lo que se dice que la diferencia es significativa estadísticamente hablando para contrastar estos resultados se hizo a la par la prueba de Tukey obteniendo al igual que en la prueba anterior un p-valor  $< 0.0001$  y dos grupos diferentes para Tukey lo que demuestra la significancia entre estos tratamientos

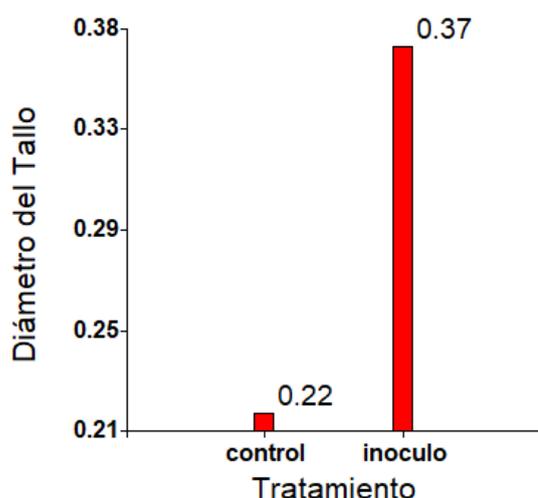


Figura 37. Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el diámetro del tallo de la quinua variedad Pasankalla. Histograma estadístico elaborado en infostat, (octubre 2019).

Los resultados obtenidos están en concordancia con los de (Martínez *et al.* 2013) el cual reporta una diferencia estadísticamente significativa en 2 cultivos tomates y pimientos en donde se observa la diferencia entre los tratamientos MA 06, MA 04 y MA12 contrastados con una prueba de Tukey al igual que (Llanos, 2017) quien menciona que el tratamiento 1 presentó el mayor diámetro de tallo con 0,210 cm, seguida del tratamiento 2 con 0,206 cm y el tratamiento 3 con 0,202 cm y el grupo control presentó un diámetro de 0,164 cm, notándose una claro crecimiento en el diámetro de los tratamientos frente al control.

Esto se ve reflejado en los siguientes valores: para el tallo la efectividad en la variedad INIA Salcedo es de 133.85% frente a un 83.16% el cual corresponde a la variedad Pasankalla (quinua roja), en cuanto a la raíz la efectividad en la variedad INIA Salcedo es de 38.24% frente a un 24.45% el cual corresponde a la variedad Pasankalla (quinua roja), para el numero de hojas la efectividad en la variedad INIA Salcedo es de 130.66% frente a un 58.35% el cual corresponde a la variedad Pasankalla (quinua roja) y por último el diámetro del tallo con una efectividad en la variedad INIA Salcedo de 133.33% frente a un 68.18% el cual corresponde a la variedad Pasankalla (quinua roja)

Las condiciones en las cuales se hizo el cultivo in situ están precisadas según estación meteorológica (inalámbrica) marca Vantage Pro2 (figura n°5) Que se encuentra en la estación experimental del INIA las parcelas cuentan con una temperatura ambiente mensual en enero de 11.5 °c en febrero de 10.2°c en marzo 10.5°c, abril con 9.74°c con picos de 19.7°c como temperatura máxima y 0.7°c de temperatura mínima, con precipitación de 217.79mm en enero, 120.51mm en febrero 83.71mm en marzo, 54.05mm en abril, 17.5mm en marzo, humedad relativa en los cuatro meses de de 70,92 %; evaporación media de 111,33 mm y una velocidad máxima del viento de 5,44 m s-1 y mínima de 3,64 m s-1. Se ubica en el área de clima templado andino

Por otro lado, es importante saber la función que cumplen estos macronutrientes esenciales en las plantas y el mecanismo de acción que toman para que su desarrollo sea más eficaz como por ejemplo el P es un macronutriente de gran importancia puesto que está involucrado en la fotosíntesis, la respiración, almacenamiento y transferencia de energía, la división y crecimiento celular. (INPOFOS, 1997) también menciona que la elongación de la raíz y su formación se acelera, además el P está involucrado en la transferencia de características hereditarias de una generación a la siguiente

(Moreno *et al.* 2018) menciona que, en cultivos como el arroz, maíz, trigo, caña de azúcar, nabo entre otros se encuentran bacterias como Bacillus, Pseudomonas, Azotobacter y muchas mas las cuales tienen como función la biofertilización, elongación y crecimiento de la planta además de la producción de fitohormonas, a esto se le suman los reportes de (Loredo *et al.* 2004) De (Sevilla y Benjumeda, 2017), (Pérez *et al.* 2016) y (Criollo *et al.* 2013) que además insisten en que la

colonización de la raíz por BPCV está relacionada con una mayor disponibilidad de carbono y humedad en la rizosfera

(Lingle y Wight, 1964) lograron constatar con sus experimentos de fertilización de variedades cantaloupe a diferentes dosis de N, P, K que hubo un incremento en el rendimiento de 25 a 300% se consiguió después de la aplicación de N y señala también que pueden esperarse respuestas a las aplicaciones de hasta 120 kg/ha o más dependiendo del contenido de materia orgánica.

Las interacciones y señales moleculares que existen en los ecosistemas reflejan la ausencia de los bioinoculantes, esta misma influye en la interacción entre suelo-planta- microorganismos (Antoun y Prévost, 2005). Así mismo para el desarrollo de inoculantes que beneficien los cultivos en el futuro se deben de tomar en cuenta una serie de requisitos como: inoculación de consorcios que pueden estimular el crecimiento de plantas en diferentes etapas de crecimiento y que muestre uno o más de los mecanismos conocidos de acción de BPCV, visualizar el suelo de la región y de los sistemas generales de gestión de los cultivos utilizados, los inoculantes de las BPCV tendrán que ser compatibles con los productos de agroquímicos utilizados, así como con las enmiendas orgánicas del suelo utilizado, y en su desarrollo hay que tener en cuenta el tiempo de formulación del producto y de los sistemas de producción donde se utiliza la rotación de cultivos

## V. CONCLUSIONES

Las bacterias biofertilizantes (solubilizadoras de fosfato y potasio y fijadoras de nitrógeno) en suelos de INIA Salcedo e Ilave del distrito de Puno, tienen una carga bacteriana amplia de las cuales se llegó a identificar a 3 géneros de bacterias, *Bacillus subtilis*, *Pseudomona putida*, *Pseudomona flourescens* y *Azotobacter sp.* Todas estas de gran importancia agrícola ya que además de ser promotoras de crecimiento también son controladoras de algunas bacterias parásitas y hongos perjudiciales para la planta

Las bacterias cuantificadas solubilizadoras de fosfatos, potasio y fijadoras de nitrógeno en suelos de INIA Salcedo e Ilave del distrito de Puno no mostró una diferencia estadísticamente significativa, además el pH y otro tipo de indicadores son similares, por lo que se presume que la carga bacteriana en todos los puntos de muestro son iguales

El efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio, fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad INIA SALCEDO es positiva teniendo así un 133.85% de efectividad en cuanto a la altura, 38.24% de efectividad en la raíz, 130.66% de efectividad en el número de hojas y 13 3.33% de efectividad en el diámetro del tallo. Obteniendo así una diferencia estadísticamente significativa frente a un control que no poseía ningún tipo de inóculo

El efecto de la inoculación de bacterias solubilizadoras de potasio, fosforo y fijadoras de nitrógeno en el crecimiento de plántulas de quinua hasta la etapa de botón floral en la variedad PASANKALLA (quinua roja) es positiva teniendo así un 83.16% de efectividad en cuanto a la altura, 26.45% de efectividad en la raíz, 58.35% de efectividad en el número de hojas y 68.18% de efectividad en el diámetro del tallo. Obteniendo así una diferencia estadísticamente significativa frente a un control que no poseía ningún tipo de inóculo

## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar el mismo procedimiento de inóculo para otro tipo de cultivos ya que estas bacterias no son propias de la quinua y su valor agroindustrial está infravalorado, el potencial agrícola se extiende a muchos otros cultivos propios de la región Puno ya que son bacterias nativas.
- Se recomienda duplicar este trabajo en la quinua hasta la etapa final de esta misma la cual es el panojamiento para posteriormente realizar un análisis bromatológico y así ver su valor nutricional.
- Se recomienda una investigación más exhaustiva de las bacterias promotoras de crecimiento ya que se podría identificar otras bacterias quizá de mayor importancia.
- Se recomienda realizar un cepario de las bacterias promotoras de crecimiento para su posterior identificación mediante métodos mucho más específicos.
- Se recomienda realizar un análisis de caracterización de suelo y microbiológico como antes de la siembra y después de culminado el proyecto de investigación para así observar la diferencia de los inóculos bacterianos en los suelos.
- Se recomienda considerar las condiciones climáticas para replicar el trabajo de investigación puesto que este factor influye directamente en el desarrollo del cultivo de quinua. Así como los ecotipos y accesiones de la quinua

## VII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- Aguirre, lina valderrama. (2013). Evaluación de cepas nativas de *Azotobacter* spp como agente reductor de urea en el cultivo de caña de azúcar ( *Saccharum* spp ). Evaluación de cepas nativas de *Azotobacter* spp como agente reductor de urea en el cultivo de caña de azúcar ( *Saccharum* spp ).
- Adesemoye, A. O., & Kloepper, J. W. (2009). *Plant – microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency*. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2196-0>
- Ahemad, M., & Saghir, M. (2010). Plant growth promoting activities of phosphate- solubilizing *Enterobacter asburiae* as influenced by fungicides. *EurAsian Journal of Biosciences*, 4(11).
- Álvarez Rodríguez, T. J. (2015). *CARACTERIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS RIZOSFERICAS Y SU EFECTO EN INTERACCIÓN CON EL CULTIVO DE PAPA (Solanum tuberosum). var. Bolona*. Universidad Nacional de Loja.
- Antoun, H., & Prévost, D. (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. PGPR: Biocontrol and Biofertilization.
- Apaza, V., Cáceres, G., Estrada, R., & Pinedo, R. (2013). *Variedades Comerciales De Quinua En El Perú. Catálogo De Variedades Comerciales De Quinua En El Perú* (Vol. 1st). Retrieved from [www.inia.gob.pe/%0Ahttp://www.fao.org/3/a-as890s.pdf](http://www.inia.gob.pe/%0Ahttp://www.fao.org/3/a-as890s.pdf)
- Avis, *et al.* (2008). Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(7), 1733–1740.
- Bailon Lira, L., Gonzalez Melendez, R. C., & Cervantes Sandoval, A. (2003). *Atlas de Pruebas Bioquímicas para Identificar Bacterias*.
- Bashan, Y., *et al* (2003). Promoción del crecimiento en plantas por bacterias de la rizósfera. *Revista agricultura técnica en México*.
- Bedoya Medina, P., & Torreblanca Núñez, I. N. (2015). *EFECTO DE COMPOST INOCULADO CON BACTERIAS DE LOS GÉNEROS AtotobacterY Novosphingobium FIJADORAS DE L.) EN LA YARADA — TACNA, 2011-2012 Azotobacter AND Novo . ohimngobiuni NITROGEN-FIXING IN THE PERFORMANCE*. 27–30.
- Benjumeda Muñoz, D. (2017). *Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones*.
- Brito Espinoza, F. A. (2014). *Identificación por fenotipo , cuantificación y técnicas moleculares de bacterias a dos profundidades en el cultivo "Hypericum " antes y después del tratamiento de 1-3 Dicloropropeno y Cloropicrina Fidel Armando Brito Espinoza Antonio León , Ph . D ., Dir.*
- Burbano Orjuela, H. (2016). El suelo y su relación con los servicios ecosistémicos y la seguridad alimentaria. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 33(2), 117. <https://doi.org/10.22267/rcia.163302.58>
- Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA DE CEPAS de *Bacillus* spp. AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DE PAPA (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*, 9(1–2), 31. <https://doi.org/10.21704/rea.v9i1-2.393>
- Calvo Vélez, P., Reymundo Meneses, L., & Zúñiga Dávila, D. (2008). ESTUDIO DE LAS POBLACIONES MICROBIANAS DE LA RIZÓSFERA DEL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum*) EN ZONAS ALTOANDINAS. *Ecología Aplicada*, 7(1–2), 141. <https://doi.org/10.21704/rea.v7i1-2.369>

- Cárdenas, A. (2005). *Efecto de la inoculación con B. subtilis DN y Glomus fasciculatum sobre la actividad nematocida y producción de cempaxuchil (Tagetes erecta var, Alcosa)*. CINVESTAV-Irapuato.
- Cary, R., & Angulo, W. (2006). Efecto del descanso agrícola sobre la microbiota del suelo (Patarani-Altiplano central boliviano). *Ecología En Bolivia: Revista Del Instituto de Ecología*, 41(3), 103–115.
- Caviedes Alarcón, C. D., & Zapata, J. A. (2010). *AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE Pseudomonas sp., y Bacillus sp., PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN CULTIVO DE UCHUVA (Physalis peruviana L.) CON ACTIVIDAD ANTAGÓNICA FRENTE A Fusarium oxysporum*.
- Corrales Ramírez, L. C., Sánchez Leal, L. C., Arévalo Galvez, Z., & Moreno Burbano, V. E. (2014). Bacillus : género bacteriano que demuestra ser un importante solubilizador de fosfato Bacillus : a genus of bacteria that exhibits important phosphate. *Nova*, 12(21), 165–178.
- Cornelis P. (2008). *Pseudomonas: Genomics and molecular biology*. 1st eE. Caister Academic Press.
- Criollo, P. J., Obando, M., Sánchez M., L., & Bonilla, R. (2013). Efecto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a Pennisetum clandestinum en el altiplano cundiboyacense. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 13(2), 189. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol13\\_num2\\_art:254](https://doi.org/10.21930/rcta.vol13_num2_art:254)
- Cuervo, J. (2010). *Aislamiento y Caracterización de Bacillus spp como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales*. 1–28.
- De Sevilla, U., & Benjumbeda Muñoz, D. (2017). *Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones*.
- Esaú López-Jácome, L., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., & Franco-Cendejas, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigación En Discapacidad Medigraphic*, 3(1), 10–18. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/rid>
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C., & Mendoza, G. (2011). Caracterización de cepas nativas de Azotobacter spp . y su efecto en el desarrollo de Lycopersicon esculentum Mill . “tomate ” en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 2, 39–49.
- Escobar Escobar, N., Delgado, J. M., Jaime, N., & Jola, R. (2012). *IDENTIFICACIÓN DE POBLACIONES MICROBIANAS EN COMPOST DE RESIDUOS ORGÁNICOS DE FINCAS CAFETERAS DE CUNDINAMARCA IDENTIFICATION OF MICROBIOLOGICAL POPULATIONS IN ORGANIC WASTE COMPOST FROM COFFEE FARMS IN CUNDINAMARCA (COLOMBIA)*. Retrieved from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-30682012000100006&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-30682012000100006&script=sci_abstract)
- Espín G. (2007). *Biología de Azotobacter vinelandii*. Micro-bios. Instituto de biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México
- Esitken, A., Yildiz, H. E., Ercisli, S., Figen Donmez, M., Turan, M., & Gunes, A. (2010). Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae*
- Farfan Ramos, M. A. (2017). *INFORME FINAL PASANTÍA MICROORGANISMOS PROMISORIOS FIJADORES DE NITRÓGENO , UN BIOINSUMO DE USO AGRÍCOLA Presentado por : DANIELA ALEJANDRA FARFÁN RAMOS COD : 20132085291*

Presentado a : *TECNOLOGÍA EN SANEAMIENTO AMBIENTAL.*

- Fernandez Olmos, A., Garcia de la Fuente, C., Saéz Nieto, J., & Valdezate Ramos, S. (2010). *Metodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología.*
- Flores, A. C., Contreras, J. C., Reyes, M. H., & Rodríguez, R. (2012). Aislamiento e identificación de cepas nativas del suelo mexicano del género *Azotobacter*. *Revista Científica de La Universidad Autónoma de Coahuila*, 4(8), 32–41
- Flores Chávez, linda celia. (2009). *Efecto de la interacción entre microorganismos PGPR con Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares para la promoción de crecimiento vegetal en Aguaymanto (Physalis peruviana L.).*
- Franco Cardoza, Y. (2005). Reseña de “LA MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA Y SU APLICACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS.” *Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal Cuba*, pp. 65–68.
- Fravel, D. R. (2005). Commercialization and Implementation of Biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 43(1)
- Gomez Pando, L., & Aguilar Castellanos, E. (2017). GUIA DE CULTIVO DE QUINUA. In *Proceedings of the 2017 14th International Joint Conference on Computer Science and Software Engineering, JCSSE 2017*. <https://doi.org/10.1109/JCSSE.2017.8025923>
- González F., H., & Fuentes M., N. (2017). Mecanismo de acción de cinco microorganismos promotores de crecimiento vegetal. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 34(1), 17. <https://doi.org/10.22267/rcia.173401.60>
- Goitia J. (2014). Aislamiento de Bacterias Diazotróficas en Suelos de Cultivo, Virgen y Humus de Lombriz del Distrito de Puno y su Efecto In-vitro en la Germinación de la Quinoa (*Chenopodium quinoa* WILLD.). Universidad Nacional del Altiplano Puno. Puno – Perú. Tesis
- Guerra, G., Betancourth, C., & Salazar, C. (2011). Antagonismo de *Pseudomonas fluorescens* Migula frente a *Fusarium oxysporum* sp. pisi Schtdl en arveja *Pisum*
- Guevara Granja, M. F. (2010). *AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE POTASIO A PARTIR DE MUESTRAS DE SUELO Y RAÍCES DE CULTIVOS DE ALCACHOFA DE LA LOCALIDAD DE LA REMONTA, CANTÓN CAYAMBE (i ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA)*. Retrieved from <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/930/1/T-ESPE-029607.pdf>
- Guzmán, A., Obando, M., Rivera, D., & Bonilla, R. (2012). *Selección y caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) asociadas al cultivo de algodón (Gossypium hirsutum)*. XIV(1).
- Hernández, L., & Escalona, M. (2003). Microorganismos que benefician a las plantas: las bacterias PGPR. *Revista La Ciencia y El Hombre*, 16(1), 29–32.
- Instituto cambio climatico. (2017). *Instituto nacional de ecología y cambio climatico.*
- IFA, (1993). Los Fertilizantes y su Uso. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 20(12),
- Jiménez, D. (2007). *Caracterización Molecular de Cepas Nativas Colombianas de Azotobacter spp. mediante análisis de restricción del DNAr ribosomal 16S*. 86.
- Karakurt, H., & Aslantas, R. (2010). Effects of some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strains on plant growth and leaf nutrient content of apple. *Journal of Fruit and*

*Ornamental Plant Research*

- Kah, M., & Brown, C. D. (2007). Behaviour of ionisable pesticides in soils To cite this version : Mélanie Kah Supervisor : Professor Colin D . Brown University of York
- Lara, C., Sanes, S. C., & Oviedo, L. E. (2013). Impacto de bacterias nativas solubilizadoras de fosfato en el crecimiento y desarrollo de plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.). *Biotecnología Aplicada*, 30(4), 271–279.
- Lara Mantilla, C., Alvarez, A., & Oviedo Zumaqué, L. (2013). Impacto de inoculación con la bacteria nativa azospirillum sobre oryza sativa l. en Córdoba-Colombia. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 11(2), 37–45.
- Lara Mantilla, C., & Negrete Peñata, J. L. (2015). Efecto de un bioinoculante a partir de consorcios microbianos nativos fosfato solubilizadores, en el desarrollo de pastos Angleton (*Dichanthium aristatum*) Titulo en ingles: Effect of bio-inoculant from microbial consortia phosphate solu. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(1), 122–130. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v17n1.50741>
- Laral, C., Esquivel Avila, L. M., & Negrete Peñata, J. L. (2011). BACTERIAS NATIVAS SOLUBILIZADORES DE FOSFATOS PARA INCREMENTAR LOS CULTIVOS EN EL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA-COLOMBIA. (Spanish). *NATIVE PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA TO INCREASE THE CROPS IN THE DEPARTMENT OF CORDOVA-COLOMBIA. (English)*, 9(2), 114–120.
- León, D. (2001). *Evaluación de la metodología microbiológica y molecular para la detección de Bacillus subtilis en microcosmos de suelo*. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN.
- Llanos Machaca, M. Y. (2017). *Bac BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO DEL GÉNERO il lus EN SUELOS DE LA PROVINCIA DE EL COLLAO (PUNO) Y ( Ch SU EFECTO EN LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE QUINUA eno podi u m qui n o a Willd.) EN CONDICIONES DE INVERNADERO*. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO.
- Llenque Diaz, L. A. (2011). *Efecto de la Temperatura pH y Concentración de Sustrato Sobre la Velocidad de Hidrolisis de Almidón de Papa por Bacillus subtilis*.
- Llenque, L. (2015). *Pseudomonas fluorecens de suelos agrícolas degradadora del herbicida ácido 2,4 Diclorofenoxiacético*. 3(2).
- Loredo, O. C., López, R. L., & Espinosa, V. D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: una revisión. Plant Growth-Promoting Bacteria in Association with Graminaceous Species: A Review. *TERRA Latinoamericana*, 22(2), 225–239.
- Lozano, Z. (2014). *Muestreo con fines de caracterización y evaluación de propiedades de los suelos*. (May).
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63(1), 541–556
- Márquez Torres, F. J. (2007). Aislamiento Y Taxonomía De Bacterias Del Género Bacillus Recolectadas En Suelos De Un Bosque De Pinus Radiata Y Una Pradera Permanente En Distintas Épocas De Muestreo. *Licenciatura*, 1–66.
- Madigan M, Martinko J. (2005). Brock Biology of Microorganisms. 11th ed. Prentice Hall.
- Martínez, L. L., Peniche, R. A. M., Iturriaga, M. H., Medrano, S. M. A., & Pacheco Aguilar, J. R. (2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento

- de tomate y pimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(1), 63–69.
- Mendoza, R. B., & Espinoza, A. (2017). *Guía Técnica para Muestreo de Suelos ASA AGUA Y SUELO PARA LA AGRICULTURA*. Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/151729876.pdf>
- Mengel, K. (2006). Potassium. En: Barker, A.V. and D.J. Pilbeam. Handbook of plant nutrition. CRC Press, Boca raton, Florida
- Montero, C., & Romero, C. (2017). Análisis Económico de la Producción Nacional de la Quinoa DIRECCIÓN GENERAL DE POLÍTICAS AGRARIAS INFORME.
- Moreno, L. Y., & Galvis, F. (2013). Potencial biofertilizante de bacterias diazótrofes aisladas de muestras de suelo rizosférico. (Spanish). *Pastos y Forrajes*, 36(1), 33–37. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fua&AN=91532603&lang=es&site=ehost-live>
- Moreno Reséndez, A., García Mendoza, V., Reyes Carrillo, J. L., Vásquez Arroyo, J., & Cano Ríos, P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), 68–83. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707>
- Mostacedo, bonifacio. Fredericckens, T. (2000). Métodos Básicos de muestreo y Análisis en Ecología Vegetal. *Proyecto de Manejo Forestal Sostenible (BOLFOR)*, 2, 92. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Mujica, A. (1983). Selección de Variedades de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) en Chapingo, México. Tesis de M.C. Colegio de Postgraduados, Centro de Genética. Chapingo, México.
- Ochoa, M. S., Pedraza, R. M., & Martínez, M. (2010). Plantas , hongos micorrízicos y bacterias : su compleja red de interacciones, 12(1)
- Paola, J., Marina, A., Mercedes, M., Angulo-cortés, J. P., García-díaz, A., & Pedroza, A. M. (2012). *Diseño de un medio para la producción de un co-cultivo de bacterias fosfato solubilizadoras con actividad fosfatasa*.
- Pérez-Cordero, A., Tuberquia-Sierra, A., & Amell-Jimenez, D. (2014). Actividad in vitro de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2), 213–223. <https://doi.org/10.15517/am.v25i2.15425>
- Pérez, M. (2014). *CUANTIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA FÚNGICA Y BACTERIANA EN EL SUELO ARENADO DE UN CULTIVO BAJO PLÁSTICO EN ALMERÍA*.
- Pérez Álvarez, S., Coto Arbelo, O., Echemendía Pérez, M., & Ávila Quezada, G. (2015). *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿control biológico o patógeno? *Pseudomonas Fluorescens, Biological Control or Pathogen?*, 30(3), 225–234.
- Quenaya Aycaya, G. (2012). *Influencia de la biofertilización con Azotobacter chroococcum en la producción y calidad de cebolla rosada (Allium cepa L.) en el valle de Locumba*.
- Realpe, M., Hernández. y Agudelo, C.(2002). Especies del género Bacillus: morfología macroscópica y microscópica. Instituto Nacional de Salud. Bogotá – Colombia.
- Ramos Alegría, M. ., & Velázquez Gurrola, A. (2015). Beneficios de microorganismos solubilizadores de P y K en la recuperación y mantenimiento de suelos agrícolas. *VIII Congreso Mundial de La Palta*, 8(Tabla 1), 495–500.
- Restrepo Correa, S. P., Pineda-Meneses, E. C., & Ríos-Osorio, L. A. (2017). Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: una revisión sistemática. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria Mosquera (Colombia)*, 18(2),

335–351.

- Rives, N., Baldani, V., & Hernández, A. (2012). Aislamiento e identificación de bacterias diazotróficas asociadas al cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Revista Cubana Del Arroz*, 14(2)
- Rodriguez, C. ., & Hernandez, M. J. . (2009). Aislamiento y seleccion de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal en cultivos de uchuva (*Physali peruviana* L.) con capacidad antagónica frente a *Fusarium* sp. *Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Ruiz, P. O. (2002). *BIOGEOGRAFIA MICROBIANA: UNA PRIORIDAD EN LA INVESTIGACION DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA* n. 14, 2002 0. 9.
- Sánchez Moreno, A. S., & Montoya Marín, M. A. (2012). Identificación de bacterias productoras de Polihidroxialcanoatos (PHAs) en suelos contaminados con desechos de fique. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(2), 89–100.
- Sánchez Rodríguez, J., Rocafull Ríos, Y., & Robaina Baró, Y. (2016). *EFFECTIVIDAD DE CEPAS DE Azotobacter sp. Y Bacillus sp. PARA EL CONTROL DE ESPECIES FÚNGICAS ASOCIADAS A HORTALIZAS*. 37, 13–19. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1385.9443>
- Sadoff, H.L.(1975). Encysment and germination in *Azotobacter vinelandii*. *Bacteriological Reviews*.
- Sarajuohi, M., Reza, M., Nurmohammadi, G., Kashani, A., Rejali, F. & Mafakheri, S. (2012). Response of Yield and Yield Components of Maize (*Zea mays* L.) to Different Biofertilizers and Chemical Fertilizers. *American Eurasian Journal Agriculture & Environmental Sciences*.
- Salisbury, F.B. Y C.W. ROSS. (1994). *Fisiología Vegetal*. Interamericana. México. 759 p
- Sarabia, M., & Al, E. (2010). Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. *Revista Biológicas*, 12(1), 65–71.
- Scheiner, J. D., & Lavado, R. S. (1999). Soil water content, absorption of nutrient elements, and responses to fertilization of sunflower: A case study. *Journal of Plant Nutrition*, 22(2)
- Schoebitz Cid, M. I. (2006). Aislamiento y caracterización de bacterias promotoras de crecimiento vegetal de la rizósfera de *Lolium perenne* L . de suelo volcánico ( modelo género *Azospirillum* spp .)
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). *Phosphate solubilizing microbes : sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils*. (Richardson 1994), 1–14.
- Showkat S, Murtaza I, Laila O, Ali A. (2012). Biological Control of *Fusarium oxysporum* and *Aspergillus* sp. by *Pseudomonas fluorescens* Isolated From Wheat Rhizosphere Soil of Kashmir. *J Pharm Biol*.
- Souto, I., Correa, S., Montecchia, S., Kerber, L., Pucheu, L., Bachur, M. y García, F. (2004). Genetic and functional characterization of a *Bacillus* sp. Strain excreting surfactin and antifungal metabolites partially identified as iturin-like compounds. *Journal of Applied Microbiology*.
- Sparks, D. L. (1995). *Environmental Soil Chemistry*. Academic Pres, San Diego
- Suresh, A., & Al, E. (2010). Plant growth promoting activities of fluorescent pseudomonads associated with some crop plants. *African Journal of Microbiology Research*, 4(14), 1491–

1494.

- Tejera Hernández, Berto; Heydrich Pérez, Mayra.; Rojas-Badía, M. M. (2013).  *AISLAMIENTO DE Bacillus SOLUBILIZADORES DE FOSFATOS*. 24(2), 357–364.
- Tran, H., Ficke, A., Asiimwe, T., Höfte, M., & Raaijmakers, J. M. (2007). Role of the cyclic lipopeptide massetolide a in biological control of *Phytophthora infestans* and in colonization of tomato plants by *Pseudomonas fluorescens*. *New Phytologist*, 175(4)
- Torriente, D. (2010). Revisión bibliográfica APLICACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZUCAR. PERSPECTIVAS DE SU USO EN CUBA. *Cultivos Tropicales*, 31(1), 19–26.
- Tello, K. C. (2009). DEMANDA DE LA QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willdenow) A NIVEL INDUSTRIAL. Retrieved from <http://quinua.pe/wp-content/uploads/2015/03/AGR-16-34-TM.pdf>
- Tisdale S. y Werne.N (1991) Fertilidad de los Suelos y Fertilizantes. México, D.F. 760p.
- Torriente, D. (2010). revisión bibliográfica aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azucar. perspectivas de su uso en cuba. *cultivos tropicales*.
- Tran, H., Ficke, A., Asiimwe, T., Höfte, M., & Raaijmakers, J. M. (2007). Role of the cyclic lipopeptide massetolide a in biological control of *Phytophthora infestans* and in colonization of tomato plants by *Pseudomonas fluorescens*. *New Phytologist*, 175(4), 731–742.
- Uribe, D., Ortiz, E., Portillo, M., Bautista, G., & Cerón, J. (1999). Diversidad de pseudomonas fluorescentes en cultivos de papa de la región Cundiboyacense y su actividad antagonista in vitro sobre *Rhizoctonia solani*. *Rev. Colomb. Biotecnol*, 2(1), 50–58.
- Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & De los Santos-Villalobos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1), 95–130. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>
- Yanez, V. (2012). Potencial de la cepa CPA-8 de *Bacillus subtilis* como agente de biocontrol de enfermedades de postcosecha de fruta. Tesis doctoral. Universidad de Lleida – Departamento de biotecnología. Malaga – España.
- Weert, S. y Bloemberg, G. (2006). Rhizosphere competence and the role of root colonization in biocontrol. Gnanamanickam (ed.). *Plant-Associated Bacteria*.
- Wyss O, Newmann MG, Socolofsky MD. (1961). Development and germination of the *Azotobacter* cyst. *J Biophys Biochem Cytol*.
- Zeiger, E., & Taiz, L. (2006). Fisiología vegetal/ *Plant Physiology*. Retrieved from [https://books.google.com.co/books/about/Fisiologia\\_vegetal\\_Plant\\_Physiology.html?id=H\\_1CmwEACAAJ&pgis=1](https://books.google.com.co/books/about/Fisiologia_vegetal_Plant_Physiology.html?id=H_1CmwEACAAJ&pgis=1)

## **ANEXOS**

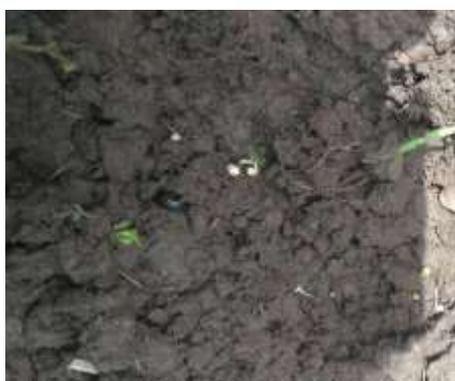
Figuras de control de crecimiento de las plántulas



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 38. semillas germinando a las 48h de ser plantadas (a) y (c) semillas de la variedad INIA salcedo (b) y (d) semillas de la variedad Pasankalla, parcelas Inia Salcedo, (enero 2019)



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 39. plántulas de quinua a las 96h, a la derecha (a) y (c) variedad Pasankalla, a la izquierda (b) y (d) variedad INIA salcedo, parcelas Inia Salcedo, (febrero 2019).



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)



(h)

Figura 40. plantulas de quinua con 4 hojas verdaderas (a), (b), (c) y (d) variedad Pasakalla (e), (f), (g) y (h) variedad INIA salcedo, parcelas Inia Salcedo, (febrero 2019)



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



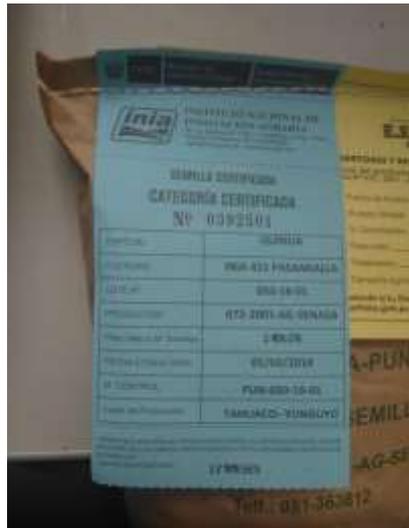
(g)

(h)

Figura 41. Plantas de quinua desde la etapa de ramificacion hasta el boton floral a los 93 dias, parcelas Inia Salcedo, (marzo 2019).



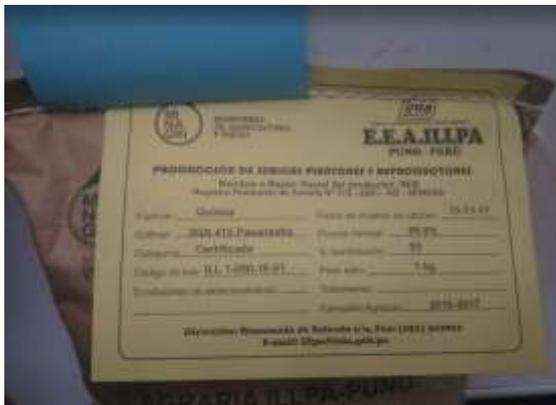
Figura 42. biometría con un vernier de los tallos, raíces y diámetro del tallo (este procedimiento se realizó para todas las muestras seleccionadas), laboratorio UNAP (marzo 2019)



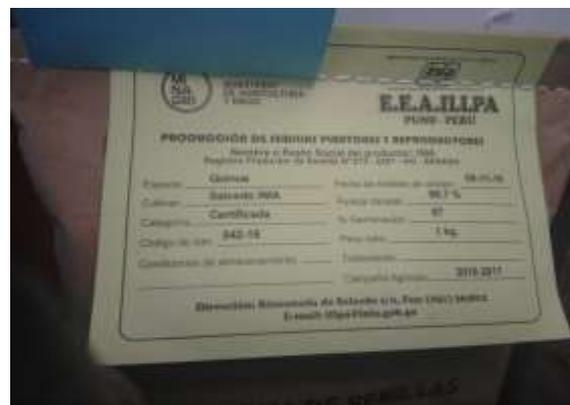
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 43. semillas certificadas utilizadas para realizar este trabajo de investigación (a) y (c) variedad Pasankalla (b) y (d) variedad INIA salcedo

DOCUMENTOS:

Análisis de biofertilidad y características del suelo.

Constancia de ejecución del proyecto de tesis Instituto de Innovación Agraria.

Constancia de ejecución del proyecto de tesis Universidad Nacional del Altiplano.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**  
**LABORATORIO DE AGUAS Y SUELOS**



**ANÁLISIS DE CARACTERIZACIÓN DE SUELOS**

PROCEDENCIA : INIA SALCEDO  
 INTERESADO : Carmen Fiorela Urviola Aragon  
 MOTIVO : Analisis de Fertilidad  
 MUESTREO : 17/12/2018  
 ANÁLISIS : 17/12/2018  
 LABORATORIO : Agua y Suelo FCA – UNA

# ORD	CLA DE CAMPO	ANÁLISIS MECANICO			CLASE TEXTURAL	CO <sub>3</sub> <sup>+</sup> %	M.O. %	N. TOTAL %
		ARENA %	ARCILLA %	LIMO %				
01	INIA-SALCEDO	52.10	35.00	12.90	Franco Arcillo Arenoso	0.00	5.90	0.14
02	ILAVE	48.00	49.00	3.00	Arcillo Arenoso	0.00	3.15	0.11

# ORD	pH	C.E. mS/cm	C.E. (e) mS/cm	ELEMENTOS DISPONIBLES		CACIONES CAMBIABLES					CIC me/100 g	S.B. %
				P ppm	K ppm	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup>		
01	7.25	0.22	1.10	15.76	258	NC	NC	NC	NC	0.00	NC	NC
02	7.07	0.14	0.70	10.10	88	NC	NC	NC	NC	0.00	NC	NC

FArA = Franco arcillo arenoso  
 Ar = Arcilloso  
 FArA = Franco arcillo arenoso  
 FA = Franco Arenoso  
 CIC= Capacidad Intercambio Cationico  
 N = Nitrógeno total  
 K<sup>+</sup> = Potasio cambiabile  
 A= Arena  
 Ca<sup>2+</sup>= Calcio cambiabile  
 Na<sup>+</sup>= Sodio cambiabile  
 CO<sub>3</sub><sup>+</sup> = Carbonatos  
 me = miliequivalente.

FAr = Franco arcilloso  
 M.O.=Materia orgánica  
 P = Fósforo disponible  
 K = Potasio disponible  
 C.E. = Conductividad eléctrica  
 SB = Saturación de bases  
 Mg<sup>2+</sup> = Magnesio cambiabile  
 mS/cm = milisiemens por centimetro  
 C.E.(e) = Conductividad eléctrica del extracto  
 Al<sup>3+</sup> = Aluminio cambiabile  
 NC = no corresponde



**Instituto Nacional de Innovación Agraria**

Programa de Raíces Tuberosas

"Año de la lucha contra la corrupción e impunidad"

**CONSTANCIA****EL QUE SUSCRIBE JEFE DEL PROGRAMA DE RAÍCES TUBEROSAS DE  
EL INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACION AGRARIA DE SALCEDO –  
PUNO.****HACE CONSTAR:**

Que los Bachilleres, Carmen Fiorela Urviola Aragón y Luis Ordoñez Abarca, egresados de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano han realizado su trabajo de investigación titulado **“EFECTOS DE CRECIMIENTO HASTA LA ETAPA DE BOTON FLORAL DE DOS VARIEDADES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*) UTILIZANDO BACTERIAS BIOFERTILIZANTES EN PARCELAS EXPERIMENTALES DEL INIA”**. Realizado en los meses de enero a abril del 2019.

Se emite la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que se estime por conveniente.

Puno, 13 de mayo del 2019

Atentamente



INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA  
ESTACION EXPERIMENTAL AGRARIA ILLPA - PUNO

Ing. M. Sc. Jesús H. Arcos Pineda  
COORDINADOR PM RAÍCES Y TUBEROSAS



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**LABORATORIO DE ECOLOGÍA ACUÁTICA**

Reconocido por resolución N° 2787-2017-R-UNA

Reconocido por la SUNEDU N° 101-2017-SUNEDU/CD



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

**CONSTANCIA**

**EL QUE SUSCRIBE JEFE DEL LABORATORIO DE ECOLOGÍA ACUÁTICA  
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNA – PUNO.**

**HACE CONSTAR:**

Que la Bachiller, Carmen Fiorela Urviola Aragón Luis Javier Ordoñez abarca, egresados de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano ha realizado su trabajo de investigación titulada **EFFECTOS DE CRECIMIENTO HASTA LA ETAPA DE BOTON FLORAL DE DOS VARIETADES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*) UTILIZANDO BACTERIAS BIOFERTILIZANTES EN PARCELAS EXPERIMENTALES DEL INIA**". Realizado en los meses de enero a abril del 2019.

Se emite la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que se estime por conveniente.

Puno, de Noviembre del 2019

Atentamente

  
Belen Lugo Palacios Escobar  
BIOLOGO  
D.B.P. N° 212