



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y
Geográfica
Unidad de Posgrado

**Evaluación de un biofertilizante (Azotobacter y
Rhizobium) para tarwi y frijol caupí como alternativa
ambiental a la fertilización nitrogenada**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magister en Ciencias
Ambientales con mención en Gestión y Control de la
Contaminación

AUTOR

Erika Yovana GONZALES MEDINA

ASESOR

Mg. Mario ALCARRAZ CURI

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Gonzales, E. (2019). *Evaluación de un biofertilizante (Azotobacter y Rhizobium) para tarwi y frijol caupí como alternativa ambiental a la fertilización nitrogenada*. Tesis para optar grado de Magíster en Ciencias Ambientales con mención en Gestión y Control de la Contaminación. Unidad de Posgrado, Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

CODIGO ORCID DEL AUTOR: 0000-0001-9172-0158

CODIGO ORCID DEL ASESOR: 0000-0001-5262-2969

DNI: 41835178

GRUPO DE INVESTIGACIÓN:

- Grupo de investigación sobre Microbiología Industrial, en el laboratorio de Bioprocesos Industriales de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).
- Grupo de investigación en Biofertilizantes en la Universidad San Ignacio de Loyola (USIL).

INSTITUCIÓN QUE FINANCIA PARCIAL O TOTALMENTE LA INVESTIGACIÓN:

Autofinanciado

UBICACIÓN GEOGRÁFICA DONDE SE DESARROLLÓ LA INVESTIGACIÓN. DEBE INCLUIR LOCALIDADES Y COORDENADAS GEOGRÁFICAS

El lugar de muestreo se realizó en Lima, distrito La Molina, Perú. Las coordenadas geográficas: latitud: 12° 05' 06'' S, longitud 76° 57' 09'' S.O, una altura de 236 m.s.n.m.

AÑO O RANGO DE AÑOS QUE LA INVESTIGACIÓN ABARCÓ:

Agosto 2017- Marzo 2018



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú, Decana de América

FACULTAD DE INGENIERÍA GEOLÓGICA, MINERA, METALÚRGICA Y GEOGRÁFICA

UNIDAD DE POSGRADO



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

SUSTENTACIÓN PÚBLICA

En la Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Lima, a los treinta y un días del mes de mayo del 2019, siendo las 11:30 horas, se reúnen los suscritos miembros del JURADO EXAMINADOR DE TESIS, nombrado mediante Dictamen N.º 321/UPG-FIGMMG/2019 del 28 de mayo del 2019, con la finalidad de evaluar la sustentación oral de la siguiente tesis:

TITULO

«EVALUACIÓN DE UN BIOFERTILIZANTE (*Azotobacter* y *Rhizobium*) PARA TARWI Y FRIJOL CAUPÍ COMO ALTERNATIVA AMBIENTAL A LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA»

Que, presenta la Bach. **ERIKA YOVANA GONZALES MEDINA**, para optar el **GRADO ACADÉMICO DE MAGISTER EN CIENCIAS AMBIENTALES CON MENCIÓN EN GESTIÓN Y CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN**.

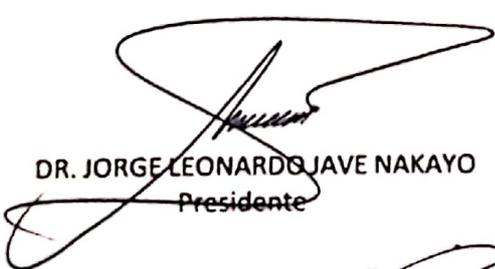
El secretario del Jurado Examinador de la Tesis, analiza el expediente N.º 01760-FIGMMG-2012 del 01 de marzo del 2012, en el marco legal y Estatutario de la Ley Universitaria, acreditando que tiene todos los documentos y cumplió con las etapas del trámite según el «Reglamento de los Estudios de Maestría y Doctorado».

Luego de la Sustentación de la Tesis, los miembros del Jurado Examinador procedieron a aplicar la escala descrita en el Art. 61 del precitado Reglamento, correspondiéndole a la graduando la siguiente calificación:

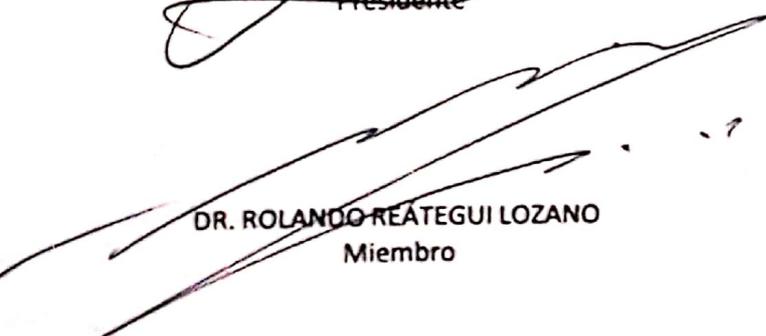
Muy bueno (17)

Habiendo sido aprobada la sustentación de la Tesis, el Presidente recomienda a la Facultad se le otorgue el **GRADO ACADÉMICO DE MAGISTER EN CIENCIAS AMBIENTALES CON MENCIÓN EN GESTIÓN Y CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN** a la Bach. **ERIKA YOVANA GONZALES MEDINA**.

Siendo las 12:30 horas, se dio por concluido al acto académico


DR. JORGE LEONARDO JAVE NAKAYO
Presidente


DR. JHONNY WILFREDO VALVERDE FLORES
Secretario


DR. ROLANDO REÁTEGUI LOZANO
Miembro


MG. MARIO ALCARRAZ CURI
Miembro Asesor

DEDICATORIA

La presente tesis se la dedico en primer lugar a Dios, por darme mucha la fortaleza, fe y esperanza durante la realización de la tesis, a todos mis seres queridos gracias por acompañarme y brindarme su apoyo, comprensión y aliento.

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco mucho a Dios por darme la oportunidad de culminar mi tesis, por darme la fortaleza que necesito, por darme la paz y tranquilidad en todo momento. Gracias Sr. por bendecirme y poner en mi camino tan buenas personas que me acompañaron en la realización de la tesis.

A mi querida Madre, de quien estoy muy orgullosa, gracias mamita por siempre estar allí cuando te necesitaba para alentarme y apoyarme. Me siento muy feliz y siempre te llevo en mi corazón. A mi padre Carlitos, gracias papá por tus consejos y apoyo constante. A mis hermanos Carlos y Karina, de la misma muchas gracias hermanos por darme su apoyo y comprensión siempre.

A Manuel Hallasi Vega, por su constante apoyo durante la realización de la tesis. Sus palabras motivadoras, su comprensión, su gran apoyo en todo este tiempo.

A todo equipo de Investigación del Laboratorio de Bioprocesos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, al Prof. Mg. Sc. Mario Alcarraz Curi, por todos sus consejos y gracias a todos los compañeros del laboratorio, en especial a Katty y Anita, Raúl y Julián por apoyo constante y compañerismo durante la realización de la tesis.

A mis compañeros de mi centro de Labores la Universidad San Ignacio de Loyola, por su apoyo durante la realización de la tesis.

A los miembros del jurado por el tiempo dedicado a la revisión de mi proyecto de tesis y borrador de tesis. Por sus recomendaciones y sugerencias para la realización del trabajo de investigación.

TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN	10
1.1 Situación Problemática.....	11
1.2 Formulación del Problema.....	13
1.3 Justificación teórica.....	14
1.4 Justificación práctica.....	15
1.5 Objetivos.....	18
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO	19
2.1. Antecedentes de investigación	19
2.1.1 Fertilizantes nitrogenados y sus formas contaminantes	19
2.1.2 Impactos negativos de los fertilizantes	20
2.1.3. Biofertilización como alternativa de reducción de la contaminación por nitrógeno	22
2.1.4. Microorganismos promotores de crecimiento vegetal y mecanismos de acción.	24
2.1.5. Aplicación de los biofertilizantes en Sudamérica	25
2.2 Bases teóricas	31
2.2.1 Clasificación taxonomía y características de <i>Rhizobium</i>	31
2.2.2 <i>Rhizobium</i> como biofertilizante	33
2.2.3 <i>Rhizobium</i> como promotor de crecimiento vegetal PGPR	34
2.2.4 Clasificación taxonómica y características de <i>Azotobacter</i>	36
2.2.5 <i>Azotobacter</i> como biofertilizante	39
2.2.6 El cultivo del tarwi (<i>Lupinus mutabilis</i>)	40
2.2.7 El cultivo de frijol caupí (<i>Vigna unguiculata</i>)	44
2.2.8. Aplicaciones del cultivo	47
2.3 Marco conceptual o glosario.....	48
2.3.1 Azotobacter	48
2.3.2 <i>Rhizobium</i>	48
2.3.3 Agricultura sustentable	48
2.3.4 Biofertilizantes	49
2.3.5 Fijación biológica de nitrógeno (FBN)	49
2.3.6. Eutrofización	50
2.3.7. Las bacterias promotoras de crecimiento (PGPRs)	50

CAPITULO 3: MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	51
3.1 MATERIALES	51
3.1.1 Material biológico	51
3.1.2 Medios de cultivo	51
3.1.3 Soluciones y reactivos	51
3.1.4 Materiales y equipos de laboratorio	52
3.1.5. Materiales para el ensayo en bandejas	53
3.1.6. Materiales para la elaboración del invernadero	53
3.2 MÉTODOLOGÍA.....	54
3.2.1 Lugar de toma de muestras y toma de muestras de suelo y plántulas	54
3.2.2 Aislamiento de <i>Rhizobium</i>	56
3.2.3 Aislamiento de <i>Azotobacter</i>	57
3.2.4 Tinción de Gram	58
3.2.5 Tinción de flagelos	59
3.2.6 Preparación de los inoculantes	59
3.2.7 Experimento en bandejas con semillas de caupí	61
3.2.8 Experimento en invernadero con semillas de caupí	62
3.2.9 Experimento en bandejas con semillas de tarwi (<i>Lupinus mutabilis</i>)	64
3.2.10 Experimento en invernadero con semillas de tarwi	64
CAPITULO 4. RESULTADOS	65
4.1. Evaluación de las plántulas muestreadas	65
4.2. Caracterización de las cepas de <i>Rhizobium</i>	66
4.3 Caracterización de las cepas de <i>Azotobacter sp</i>	69
4.4 Observación de las células por medio de la Tinción de GRAM	71
4.5 Resultado de la tinción de flagelos con el reactivo Leifson	72
4.6 Evaluación de la germinación de las semillas de caupí	73
4.7. Evaluación de la presencia de hongos en bandejas	78
4.8 Resultados del experimento de caupí en invernadero	79
CAPITULO 5. DISCUSIONES	97
5.1 Aislamiento e identificación de colonias de <i>Rhizobium</i>	97
5.2 Tinción Gram de colonias de <i>Rhizobium</i>	97
5.3. Aislamiento e identificación de colonias de <i>Azotobacter</i>	98
5.4. Tinción Gram y de flagelos de <i>Azotobacter</i>	99
5.5 Efecto de las cepas individuales (<i>Rhizobium o Azotobacter</i>) en la germinación de semillas de frijol caupí	99

5.6 Efecto del consorcio bacteriano en las semillas de frijol caupí colocadas en las bandejas	102
5.7 Efecto de todos los tratamientos en las plantas de caupí en invernadero	102
5.8 Análisis sobre la presencia de hongos en las bandejas.....	104
5.9 Contraste de los resultados con las hipótesis planteadas	104
6.0 Consideraciones finales	108
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115
ANEXO I. FLUJOGRAMA DE LA METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	125
ANEXO II. MEDIOS DE CULTIVO	126
ANEXO III. ANALISIS ESTADÍSTICO EN SPSS.....	128
ANEXO IV. GRÁFICOS.....	166
ANEXOS V. FOTOS.....	168
ANEXOS VI. DATOS DE LOS CULTIVOS	187
ANEXOS VII. Fichas en invernadero	191
ANEXOS VIII. RESULTADO DE ANÁLISIS DEL SUELO Y CONSOLIDADO DE RESULTADOS	192

INDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO	Pag.
Figura 1. Bacteria del género <i>Rhizobium</i>	30
Figura 2. Asociación simbiótica de <i>Rhizobium</i> y las leguminosas a) Leguminosa con presencia de nódulos y en b) morfología de los nódulos formados por <i>Rhizobium</i>	32
Figura 3. Características de las bacteria del género <i>Azotobacter</i> a) Colonias de <i>Azotobacter</i> en medio libre de nitrógeno b) Morfología de sus células	37
Figura 4. Características del cultivo de tarwi a) Tallos, inflorescencia, hojas b) semillas	41
Figura 5. Flores del caupí (<i>Vigna unguiculata</i>).....	46
Figura 6. Características del cultivo del frijol caupí (a) vainas y (b) semillas.....	47
CAPÍTULO: MATERIALES Y MÉTODOS	
Figura 7. Lugar del muestreo del suelo del campo de cultivo de papa de la Universidad Nacional Agraria La Molina(UNALM).....	54
Figura 8. Lugar del muestreo del suelo del campo de cultivo de frijol de la Universidad Nacional Agraria La Molina.....	55
Figura 9. Aislamiento de <i>Rhizobium</i> a partir del nódulo de frijol, técnica de aislamiento propuesta por el Manual CIAT (1987).....	56
Figura 10. Diluciones seriadas empleadas para el aislamiento de las cepas de <i>Azotobacter</i> sp (a) Materiales utilizados en el aislamiento (b) Técnica de las diluciones seriadas.....	57
Figura 11. Procedimiento a seguir para realizar la Tinción de Gram.....	58
Figura 12. Procedimiento a seguir para realizar la Tinción de flagelos.....	59
Figura 13. Preparación de los inoculantes. En (a) Cepa de <i>Rhizobium</i> aisl-1 (b) <i>Rhizobium</i> más <i>Azotobacter</i> (c) Rhizo E10 UNALM (d) <i>Azotobacter</i>	60

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

- Figura 14.** Campos de experimentales de la Facultad de Agronomía de la Universidad Agraria La Molina (UNALM).....65
- Figura 15.** Observación macroscópica de la colonias de *Rhizobium* sp. 21GR en el Medio de cultivo LMA (Levadura-Manitol-Agar) a la 48h66
- Figura 16.** Colonias de *Rhizobium* sp (E10) en LMA (Levadura-Manitol-Agar) luego de 48h de crecimiento.....68
- Figura 17.** Colonias características de *Azotobacter* en el medio de cultivo Winogradsky69
- Figura 18.** Gráfico comparativo del efecto de las cepas en la germinación de caupí luego a las 48h de crecimiento.....74
- Figura 19.** Gráfico comparativo del efecto de las cepas en la germinación de caupí luego a las 48h de crecimiento con tiempos diferentes.....75
- Figura 20.** Gráfico comparativo de la biomasa fresca y seca, número de semillas germinadas y el porcentaje de germinación de frijol caupí..... 76
- Figura 21.** Gráfico comparativo de la biomasa fresca y seca, número de semillas germinadas y el porcentaje de germinación de frijol caupí a los 18 días de crecimiento.....77
- Figura 22.** Visualización microscópica de hongos ambientales en bandejas (a) conidias de *Alternaria* (b) microconidias de hongos filamentos (c) conidias de *Penicillium* (c) esporangios de *Rhizopus*.....78
- Figura 23.** Experimento en macetas, aplicación de tres tratamientos (Rizo E10, N+ y Agua), de izquierda a derecha, luego de quince días en el invernadero.....80
- Figura 24.** Plántulas de frijol luego de quince días en invernadero.....81
- Figura 25.** Gráfica comparativa de la longitud de la parte aérea con respecto al tiempo de las plántulas del cultivo de caupí.....81

Figura 26. Gráfica comparativa de la evolución de la longitud de la parte con respecto al tiempo de las plántulas del cultivo de caupí.....	82
Figura 27. Gráfico comparativo del efecto de las cepas en la germinación de semillas de tarwi luego a las 48h.....	86
Figura 28. Gráfico comparativo del crecimiento de semillas de tarwi a las 48h, 72h y 20 días de crecimiento	87
Figura 29. Comparación del tamaño de las plántulas de tarwi, obtenidas a los 20 días luego de la siembra en bandejas.....	88
Figura 30. Comparación del tamaño de las plántulas de tarwi, obtenidas a los 20 días luego de la siembra en bandejas (a) plántulas tratadas con el consorcio Rizo aislado+ <i>Azotobacter</i> , (b) con nitrato de potasio KNO_3 y (c) con agua destilada estéril.....	89
Figura 31. Comparación de las plantas de tarwi a los 17 días, azoto y agua en el invernadero.....	90
Figura 32. Comparación de las plantas de tarwi a los 17 días (a) Rizo E10 y agua (b)Azoto y agua	91
Figura 33. Gráfico del crecimiento de las plantas de tarwi a través del tiempo, longitud de parte aérea (cm) en invernadero.....	92
Figura 34. Gráfico de la evolución del crecimiento de las plantas de tarwi a través del tiempo, longitud de parte aérea (cm) en invernadero.....	92

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN

Las bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico (N_2) tienen la capacidad de convertir el N_2 , que constituye el 78% en la atmósfera, en formas asimilables para las plantas amoníaco y nitrato. Es debido a esta capacidad que participan de forma natural en los ecosistemas en el ciclo del nitrógeno y son una fuente potencial para formular biofertilizantes para aplicarlos a los suelos, siendo una opción económica y ecológica amigable para promover una agricultura sostenible (Hungria y col, 2016). Así mismo, son una alternativa biológica que puede sustituir el uso de fertilizantes químicos para los suelos, mejora la fertilidad de los suelos, son ecoamigables y de mejor costo para el agricultor. En el presente trabajo de investigación se darán a conocer los resultados de la investigación en la cual se estudiaron dos bacterias fijadoras de nitrógeno del suelo, *Azotobacter* y *Rhizobium*, obtenidas de muestras de suelos agrícolas, el documento de tesis consta de cinco capítulos.

En el Capítulo I, se detallará la situación problemática de la investigación, la formulación del problema, la justificación de la investigación en el aspecto ambiental, económico y social. Así como el planteamiento de los objetivos.

En el Capítulo II, se expone el marco teórico del estudio y las bases teóricas de la investigación. Los biofertilizantes han merecido la atención de diversos investigadores a nivel nacional e internacional debido a los efectos benéficos observados en diversos cultivos.

En el Capítulo III, se detalla los materiales y métodos utilizados al realizar la investigación en el laboratorio y en invernadero. Así mismo, en el Capítulo IV se expresa los principales resultados obtenidos de la investigación.

Finalmente, en el Capítulo V, se expresa la discusión de los resultados, por medio del análisis y contraste con las diversas referencias bibliográficas con el estudio realizado. Así como las conclusiones y recomendaciones para futuros estudios.

1.1 Situación Problemática

El crecimiento de la población, asociada a la mayor demanda de alimentos, ha llevado a generar una agricultura de mayor dependencia de los productos químicos como fertilizantes químicos y agroquímicos (pesticidas, fungicidas, nematocidas) para obtener mayor producción. Sin embargo, la aplicación excesiva de los fertilizantes y agroquímicos tiene repercusiones negativas en el ambiente aire, agua y suelo, como fue previamente reportado por diversos investigadores (Gothandani *et al*, 2017; Andreu y col, 2006, Aguado 2012). En el caso de los fertilizantes nitrogenados químicos destacan problemas tales como; eutrofización de aguas superficiales y subterráneas, deterioro de las aguas subterránea, contribuyendo así a la degradación de los ecosistemas acuáticos (Porter, 2010).

Según la Agencia de Protección ambiental (EPA) (2016), el exceso de nitratos ocasiona problemas de eutrofización, crecimiento excesivo de algas, lo cual genera en consecuencia la muerte de peces. En muchos países, la contaminación de aguas, en especial de agua subterránea por nitratos es una seria amenaza en el abastecimiento de agua potable. Uno de los factores que ocasionan este problema es el impacto negativo que tiene el uso excesivo de fertilizantes en el sector agropecuario, el uso de fertilizantes minerales (inorgánicos), estiércol y biosólidos. Si se ingiere agua contaminada, el nitrato es absorbido en el tracto gastrointestinal y usualmente son eliminados rápidamente por la orina. Sin embargo para niños, mujeres embarazadas la ingestión de alto niveles de nitrato son un riesgo para su salud. En infantes causa la metahemoglobinemia y enfermedades respiratorias (Cazalas et al, 2004). Así también en la investigación realizada por Yepis y col (1999), indica que “el uso excesivo de nitrógeno genera: problemas económicos, desequilibrios en el suelo que perjudican su fertilidad, provocan contaminación en el medio ambiente, principalmente en aguas utilizadas para consumo humano, animal y vegetal. Además afecta la colonización de rizobios fijadores de nitrógeno, problemas de salinidad, eutrofización por escorrentía desde los suelos hacia los ríos”.

El suelo naturalmente tiene las características fisicoquímicas para permitir el crecimiento de las plantas. Los suelos ideales para las leguminosas son de tipo franco-arenoso y requieren aproximadamente 5% de materia orgánica. Por este motivo se aplican enmiendas que lo complementan abonos y/o compost para aumentar la materia orgánica. Además, para complementar los minerales que requieren los suelos se aplican fertilizantes químicos de diversos tipos y composición y agroquímicos, para reducir los problemas fitosanitarios asociados a plagas y fitopatógenos (Ramírez, 2018). En el caso de los fertilizantes químicos o minerales tienen un impacto negativo en el suelo, por las razones expuestas previamente, por este motivo se requiere el uso de nuevas alternativas para mejorar la fertilidad y conservación del mismo.

Es así que la fertilización biológica o biofertilizantes en base a insumos naturales (e.g abonos, exesos de cosechas, aguas domésticas, estiércol animal y microorganismos como hongos y bacterias) surgen como una opción viable dentro del marco de una agricultura sostenible, como sostienen Muñoz y Benavides (2012). Los mismos autores también afirman que pueden mejorar la fijación de los nutrientes, facilitar el control biológico, biodegradar sustancias, biorremediar ambientes contaminados con sustancias tóxicas y xenobióticas. Además, mejoran la productividad del cultivo, mitigan la contaminación del suelo por sustancias químicas, mejoran la fertilidad del suelo y favorece el antagonismo y control de hongos fitopatógenos.

En efecto, podemos afirmar que diversos investigadores a nivel mundial, están sumando esfuerzos para lograr que se reduzca el uso de fertilizantes químicos a través de alternativas biotecnológicas. Las cuales permiten mejorar la producción de diversos cultivos en beneficio de la agricultura y el ambiente. Así recientes investigaciones en Latinoamérica realizan diversas experiencias en condiciones de

laboratorio, invernadero y campo con la finalidad de obtener nuevos biofertilizantes en base a microorganismos.

Estudios muy interesantes, como el reportado por Antoun & Prevost (2005) en Canadá, quienes realizaron una revisión sobre los mecanismos de promoción de crecimiento y las características de microorganismos de la rizósfera e interacciones microbianas de *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y micorrizas. Además, Verma *et al* (2010), informan sobre ensayos in vitro e invernadero en la India, sobre microorganismos PGPR o promotores de crecimiento vegetal, sus características, las interacciones microbianas y resultados de inoculaciones en diversos cultivos.

A nivel internacional se están desarrollando industria de los biofertilizantes se realiza a mayor escala. Así en Argentina, por el medio del desarrollo de semillas peletizadas. En el caso de Brasil, por medio de la selección de nuevas bacterias del suelo con potencialidades para aplicarse como biofertilizante, restaurar ambientes contaminados y mejorar así la calidad y fertilidad del suelo. (Parada y col, 2007, Hungría, 2016, Zúñiga, 2006). En España y México a través de investigaciones a nivel molecular, se busca comprender los mecanismos involucrados en el proceso de captación del nitrógeno y la exploración de la diversidad microbiana en el suelo. Así podemos afirmar que podemos implementar esta tecnología a nuestros suelos para la mejora de la fertilidad y la calidad del mismo y de esta forma minimizamos el uso de fertilizantes químicos contaminantes.

1.2 Formulación del Problema

¿De qué manera la aplicación del biofertilizante bacteriano constituido por *Rhizobium* y *Azotobacter* mejora el crecimiento de las plantas de tarwi (*Lupinus mutabilis*) y frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp), en reemplazo de la fertilización nitrogenada?

1.2.1 Problemas específicos

1-¿En qué medida la aplicación de un biofertilizante constituido solo por *Rhizobium* mejora el crecimiento de las semillas y plantas de tarwi y caupí?

2-¿En qué medida la aplicación de una biofertilizante constituido solo por *Azotobacter* mejora el crecimiento de las semillas y plantas de tarwi y caupí?

3-¿Cómo el consorcio microbiano *Azotobacter* y *Rhizobium* mejora el crecimiento de las semillas y plantas de tarwi y caupí?

1.3 Justificación teórica

La tesis se fundamenta teóricamente a nivel científico debido a los siguientes motivos.

El aislamiento de bacterias fijadoras de nitrógeno es un aporte al saber científico porque estas bacterias son poco estudiadas a nivel nacional. En relación a *Rhizobium*, diversos estudios realizados en Latinoamérica concluyen que la aplicación es principalmente como bacteria fijadora de nitrógeno y promotor de crecimiento intracelular para diversas especies vegetales (Verma *et al*, 2010, Santillana, 2007, Matsubara, 2012). Adicionalmente, a estas cualidades de *Rhizobium*, la publicación más reciente de Luque (2017), afirma que los exopolisacáridos producidos por especies de *Rhizobium* son considerados también bioemulsionante con posibles aplicaciones en la degradación de hidrocarburos. Lo cual abre la posibilidad de realizar futuros estudios de aplicación biotecnológica de cepas *Rhizobium*, además de las cualidades ya estudiadas previamente.

Las bacterias del género *Azotobacter* han sido estudiadas a nivel nacional, conocer sus características morfológicas, bioquímicas son de interés en la investigación nacional y para los agricultores y productores de cultivos de exportación (Rico, 2009). Esta bacteria está siendo estudiada por los resultados exitosos obtenidos en invernadero y campo en no leguminosas y se espera que sean utilizadas en nuestro país en los próximos años. Las particularidades de las cepas aisladas son también de interés para la identificación bacteriana como la producción de pigmentos o formación de quistes de *Azotobacter*. Así mismo, según la reciente investigación de Anjun *et al* (2016), las cepas aisladas nativa y recombinantes de *Azotobacter* producen grandes cantidades de polímeros PHA es cual es una alternativa al uso de productos plásticos derivados del petróleo. Estos bioplásticos son ecoamigables y biodegradables y son una alternativa ambiental que con alto potencial de aplicación en nuestro país.

Estas bacterias fijadoras simbióticas y no simbióticas participan en el ciclo del nitrógeno, en especial en la etapa de fijación biológica de forma libre. Al utilizarlo lo convierten en una forma química disponible para las plantas. Este conocimiento será de utilidad para su aplicación en otros cultivos de interés como maíz, arroz, azúcar, etc. Además de cultivos de importancia agroindustrial para incrementar su valor nutritivo

1.4 Justificación práctica

La realización de la presente tesis se justifica por su aporte en tres ejes fundamentales ambiental, social y económico.

En primer lugar, el aspecto ambiental, porque la aplicación de un biofertilizante bacteriano es una alternativa viable reducir la contaminación por nitrógeno. La sustitución en forma parcial o total minimizará el uso descontrolado y excesivo en que se aplican en la actualidad. Además, se ha demostrado en experimentos realizados en invernadero y en campo que la productividad aumenta con la

aplicación del biofertilizante en especial para los cultivos de maíz, sorgo, cebada, trigo y arroz y reduce la cantidad de nitrógeno químico aplicado (Izaguirre y col, 2007). Gothandapani *et al* (2017) menciona que la productividad de *Azotobacter* aplicado al maíz es de 20Kg/N/Ha aproximadamente. Además, demuestra que plantas inoculadas con cepas de *Azotobacter* hay un incremento en grano de maíz de 35% con respecto a las plántulas no inoculadas.

En el resumen de la Red Iberoamericana de Fertilizantes Microbianos para la Agricultura (BIOFAG) en la ciudad de Montevideo (2007), mencionan la situación actual del empleo de biofertilizantes en Latinoamérica. Izaguirre-Mayoral y col (2007) mencionan la importancia de biofertilizantes para la agricultura de los países miembros de la entre los cuales destacan Brasil, Argentina, Uruguay, México. Así como los aportes de las investigaciones realizadas sobre la aplicación de los mismos para cultivos de frijol, soya, mani y no leguminosas. Los países industrializados basan su producción agrícola en el uso de fertilizantes y pesticidas químicos mientras que en Latinoamérica se ha intentado implementar tecnologías que potencien las asociaciones planta-microorganismo por su efecto en la sostenibilidad productiva y ambiental.

Entre los países que aplicación los biofertilizantes destacan Argentina, Brasil y Uruguay se producen a gran escala y se aplican a los suelos; debido a que, son amigables con el ambiente, aportan nitrógeno y nutrientes como fitohormonas y fosfatos. En Argentina, *Rhizobium* ha sido aplicado para el cultivo del frijol (Izaguirre-Mayoral y col, 2007). En el Perú, se están aplicando inoculantes en base a fijadores libres de nitrógeno tales como *Azotobacter* en el cultivo de papa; organismos como *Pseudomona* en maca, microorganismos promotores de crecimiento para el cultivo del algodón, *Rhizobium* en frijol (Zúñiga, 2007). Sin embargo, no se aplican a gran escala pues no hay un compromiso ambiental de las instituciones productoras de fertilizantes y hay poca difusión de los efectos benéficos de su aplicación en campo.

En segundo lugar, el aspecto económico, porque mejorará la productividad del cultivo, generando mayores ingresos a las empresas del rubro. El cultivo de tarwi y de caupí genera ingresos para los agricultores. En el Perú se cultiva todo el año gracias a la diversidad de climas y variedades. Mediante la aplicación del biofertilizante, se reducirán los costos de producción en insumos como la úrea, nitratos y humus para lograr la fertilización de los campos. .

En tercer lugar, el aspecto social. Los principales beneficiados serían los medianos y pequeños productores de leguminosas, así como empresas comercializadoras y agroexportadoras de estos cultivos. Para lograr una aplicación más intensiva de los bioinoculantes requiere el apoyo y compromiso de las empresas agroexportadoras con el medioambiente. Además, en el caso de los pequeños agricultores la utilización de un biofertilizante generará una reducción en los costos de producción, lo cual se traduce en un mayor ingreso para su familia. En el Perú, se está estudiando el género *Azotobacter* en el cultivo de papa; organismos como *Pseudomona* en maca, microorganismos promotores de crecimiento para el cultivo del algodón, *Rhizobium* en frijol (Izaguirre y col, 2007). Sin embargo, aún falta conocer el más detalles del efecto benéfico de las cepas en diversos cultivos para para la mejora de la calidad del suelo, y la minimización de la contaminación por fertilizantes químicos.

1.5 Objetivos

Objetivo General

- Evaluar el efecto de un biofertilizantes bacteriano en base a *Rhizobium*-*Azotobacter* en dos leguminosas de grano tarwi (*Lupinus mutabilis*) y frijol caupí (*Vigna unguiculata L. Walp*) en remplazo de la fertilización nitrogenada

Objetivos Específicos

- Verificar si las cepas de *Rhizobium* mejora el crecimiento de las semillas y plantas de caupí y tarwi.
- Demostrar que las cepas *Azotobacter* mejoran el crecimiento de las semillas y plantas de caupí y tarwi.
- Determinar que el consorcio de cepas de *Rhizobium* y *Azotobacter* mejoran el crecimiento de las semillas y plantas de caupí y tarwi.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de investigación

2.1.1 Fertilizantes nitrogenados y sus formas contaminantes

Según Aguado (2012), los principales países productores de fertilizantes son China (22.4%), Estados Unidos (11,9%), India (9.4%), Canadá (8.7%) y Rusia (8.6%). Por lo tanto el mayor consumo mundial de fertilizantes se concentra principalmente en los tres países productores de estos agroquímicos: China 27.3%, Estados Unidos 13.5% e India 12%. El mismo autor menciona “que para el año 2020 se proyecta que el consumo mundial llegará a 208 millones de toneladas, siendo el nitrógeno el principal elemento a incorporar en los cultivos. La úrea es el fertilizante de mayor uso a nivel mundial, de tal modo que para satisfacer la demanda del mismo, la producción en el año 2007 se incrementó en 6.6% para alcanzar las 144 millones de toneladas”.

El Instituto Nacional de estadística del Perú INEI, en el 2015, reporta en la estadísticas ambientales correspondientes a ese año que la úrea y el sulfato de amonio son los dos principales productos importados, que son aplicados a los campos de cultivo (INEI, 2015). Savik (2012) sostiene que “en condiciones ideales la planta usa el 50% del nitrógeno aplicado al suelo, de 2 a 20% se pierde por evaporación y de 15 a 25% reacciona con compuestos orgánicos el resto de 2 a 10% se moviliza hacia aguas subterráneas y superficiales”.

Los fertilizantes aplicados a los suelos se encuentran bajo la forma de úrea y nitratos para mantener altos rendimientos en los cultivos. La úrea, muy utilizada por muchos países contiene 46% de nitrógeno.

En el suelo la úrea se convierte en amonio y de amonio se convierte en nitrato rápidamente por el proceso de la nitrificación; esta especie química es la que se lixivia en el suelo contaminando las aguas subterráneas y genera problemas de eutrofización (Cazalas, 2004).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) fija el límite en el agua de consumo humano en 50 mg/L de nitrato (como N). En cambio, la Agencia para la Protección del Medio Ambiente Norteamérica sitúa este límite en 10 mg/L de nitrato.

2.1.2 Impactos negativos de los fertilizantes

Los cultivos lo necesitan para su crecimiento en especial en forma de úrea y nitratos. Debido a que el suelo es carente de estas especies químicas, los agricultores aplican en forma artificial nitrógeno en forma de úrea, amonio y nitratos. Desafortunadamente la incorporación de nitrógeno es una de las principales fuentes de contaminación mundial.

El exceso de estas especies químicas puede llegar al aire y al agua entrando al ciclo del nitrógeno. Marco (2002) considera que “el exceso de nitrógeno provoca la liberación a la atmósfera de gases nitrogenados (óxido de nitrógeno) que contribuyen al efecto invernadero y lluvia ácida. Contribuye a la acidificación del suelo y a la pérdida de otros nutrientes como el calcio y el potasio, esenciales para la fertilidad”.

Efecto en la salud del hombre

En el año 2004, los investigadores del Centro de Estudios ambientales de Dinamarca indicaron que el uso de estiércol y fertilizantes químicos en la agricultura llevan a un incremento del nivel de nitratos en las aguas de bebida. Además, que las aguas de las lluvias pueden disolver los nitratos, que no sólo serán tomados por las plantas sino serán lixiviados a las aguas subterráneas o en algunos casos llegar a las aguas superficiales de bebida por escorrentía.

Si se ingiere esta agua contaminada, el nitrato es absorbido en el tracto gastrointestinal y usualmente son eliminados rápidamente por la orina. Sin embargo para niños, mujeres embarazadas y personas con deficiencia de la enzima glucosa 6Pi deshidrogenasa, la ingestión de alto niveles de nitrato son un riesgo para su salud. Según En infantes causa la metahemoglobinemia, enfermedades respiratorias (Cazalas, 2004).

Efectos dañinos en los vertebrados

De forma similar Marco (2002) sostiene que los casos más severos de contaminación por nitratos pueden causar serios problemas en diferentes grupos de vertebrados incluídos a los seres humanos. La metaglobinemia que afecta los bebes y la carcinogénesis por nitrosaminas son los efectos negativos del nitrito. Si bien el nitrato no es peligroso al reducirse a nitrito que si lo es. El nitrato también puede ser reducido en el tracto gastrointestinal de los animales, especialmente juveniles, de donde pasa a la sangre y altera la hemoglobina. Se forma así metahemoglobina, que pierde su capacidad de transportar oxígeno y causa asfixia de los tejidos. El amoniaco (NH_3), es muy tóxico para la mayoría de especies animales. La mayoría de las membranas biológicas son muy permeables al amoniaco, que penetra en el interior de los tejidos causando la intoxicación directa.

Contaminación de los acuíferos

Los nutrientes incorporados a los suelos, conforme aumenta la población, constituyen una carga para las cuencas y ecosistemas acuáticos, lo cual representa una presión en el ambiente. La carga de nitrógeno proviene de la actividad agraria, sobre todo de los fertilizantes nitrogenados y estiércoles animales (Martínez y col, 2002). La carga de nitrógeno en los suelos ha aumentado en las últimas décadas por el mayor uso de fertilizantes nitrogenados, intensificación del cultivo y una mayor carga ganadera. El nitrógeno se moviliza hacia los acuíferos y corrientes superficiales por lixiviado y escorrentía.

La Agencia Ambiental Europea (EEA) en 1999 indicó en su cuarto reporte que entre un 50 y 90% del contenido de nitrógeno en las aguas superficiales son originadas de las actividades agrarias. Los impactos de una carga excesiva de nutrientes pueden manifestarse de forma directa por contaminación del agua potable o como factor de eutrofización que elimina el oxígeno necesario para la supervivencia de los organismos acuáticos (Martínez y col, 2002).

2.1.3. Biofertilización como alternativa de reducción de la contaminación por nitrógeno

La biofertilización es una alternativa sostenible para minimizar el uso de fertilizantes nitrogenados. Un biofertilizante consiste en organismos vivos, los cuales aumentan los nutrientes de las plantas de forma simbiótica, asociados a las raíces o asimbiótica, no asociados a raíces. Entre los fijadores asimbióticos destacan *Azotobacter* y *Azospirillum*, ambas contribuyen a la mejorar el rendimiento de los cultivos hasta un 15-20% minimizando el agotamiento de nutrientes. Además, permiten que se conserve sin emplear entre 20-30 Kg N inorgánico/ ha, por su enorme potencial fijador de nitrógeno.

En 1992, los jefes de estado de todos los países del mundo formaron parte de la reunión sobre medio ambiente y desarrollo “cumbre de la tierra” celebrada en Río de Janeiro (Brasil). Una de las principales conclusiones fue que los biofertilizantes son una biotecnología apropiada para el desarrollo sostenible del país, que proveen beneficios tangibles para los destinatarios por ser ambientalmente segura, socioeconómica y culturalmente aceptables para cultivos anuales, praderas, praderas de leguminosas, hortalizas y frutales(González, 2000). Se han realizado numerosas investigaciones en las que se indican las ventajas de los preparados a base de diferentes de cepas de microorganismos biofertilizantes.

La biofertilización en la Agricultura es una de las mejores formas de incrementar la nutrición de las plantas y mejorar la fertilidad del suelo. Ha sido demostrada su efectividad en cuanto al mejoramiento de las condiciones físicas, químicas y biológicas de los suelos, el nivel de nutrición de los cultivos, la sanidad y el rendimiento de los mismos (Núñez, 2009).

Según Casanova (2004) sugiere que en el contexto de una Agricultura sostenible se considere para la fertilidad del suelo, los conceptos de fertilidad física, biológica y química. En la fertilidad biológica, sugiere que los agricultores mantener un buen nivel de materia orgánica en los suelos (incorporación de abonos verdes o cultivo de leguminosas de cobertura), el uso de inóculos de bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico en plantas de leguminosas, la aplicación de micorrizas tanto para cultivos forestales y alimenticios para la absorción de nutrientes, el uso de lombrices de tierra como mejoradoras de la estructuras del suelo y el uso de controladores biológicos.

Raja et al (2006) concluyen que la combinación de bioinoculantes es la mayor causa de éxitos para el establecimiento de la planta y la sustentabilidad de los bioinoculantes y confirma el éxito del efecto benéfico del consorcio sobre el método de inoculación convencional. Dash y Dupla (2011) menciona las siguientes asociaciones *Rhizobium* y *Bacillus*, tres tipos de hongos *Penicillium* y micorrizas, *Rhizobium* y *Glomus*, *Azotobacter* y *Pseudomonas striata*, *Glomus fasciculatum* y *Rhizobium*. En estas investigaciones se han obtenido resultados prometedores. Para el caso de la coinoculación de *Glomus* con *Rhizobium* inoculados a la fabácea *Leucaena leucephala* mejora la nodulación, la colonización micorrítica, el peso seco, el contenido de nitrógeno y fósforo de la planta comparado con la inoculación simple.

2.1.4. Microorganismos promotores de crecimiento vegetal y mecanismos de acción.

Las bacterias PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) o *Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal*, también son consideradas para la formulación de biofertilizantes. Verma et al (2010) consideran que dentro del grupo de rizobacterias promotoras de vegetal hay dos tipos de PGPR extracelular (PGPR e) y PGPR intracelular (PGPRi). Las rizobacterias promotoras de crecimiento extracelular (PGPR e) incluye a: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Serratia*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Agrobacterium*, *Chromobacterium*, *Hyphomycrobium*. Rizobacterias promotores de crecimiento intracelular (PGPR i), entre las cuales destacan las bacterias de los géneros *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium* y *Allorhizobium*. En autor sostiene que las Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) pueden aplicarse como biofertilizantes de una diversidad de cultivos de leguminosas y no leguminosas. Así el autor menciona que la coinoculación de bacterias *Rhizobium* y las bacterias promotoras de crecimiento tienen un efecto benéfico para el desarrollo de las plantas, según los estudios de inoculación realizados desde el año 1988 al 2010 en la India. Así sostiene que en la investigación de Knigth and Langston-Unkefer (1988) se aplicó *R. meliloti* y *Pseudomonas* para el cultivo de alfalfa donde se logró un incremento significativo del crecimiento de la planta, de la actividad nitrogenasa, el número total de nódulos y la cantidad de nitrógeno fijado por la planta. Para el año 2010, Verma y colaboradores sostienen que se realizó un estudio sobre la aplicación de *Rhizobium sp* y *P.fluorescens-B.Megaterium* y para el cultivo de garbanzo. En esta investigación se obtuvo un incremento significativo en el peso de los nódulos, biomasa de las raíces y brotes y el total de nitrógeno se reportó debido a la coinoculación.

Dash y Gupta (2011) mencionan a los microorganismos solubilizadores de fósforo hongos: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*, bacterias: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* y *Rhizobium*; bacterias fijadoras de nitrógeno: *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Azospirillum*; hongos micorrízicos arbusculares (AM): *Glomus*, *Gigaspora*, *Aculospora*, *Scutellospora*, *Modicella*; rizobacterias promotoras de vegetal (PGPR): *Actinoplanes*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Amorphosporagium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Cellulomonas*, *Enterobacter*, *Erwnia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Streptomyces* y *Xanthomonas*.

Según Brutti y col (2018), los microorganismos emplean una serie de mecanismos para convertir los componentes del suelo en sustancias más sencillas. El autor afirma que existen mecanismos directos e indirectos para la promoción de crecimiento. En los mecanismos directos menciona la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfato, la producción de fitohormonas, las síntesis de ACC desaminasa. En los mecanismos indirectos destacan la producción de enzimas hidrolíticas contra hongos y bacterias fitopatógenas, la competencia por nutrientes y nichos ecológicos, la regulación de síntesis del etileno, la producción de sideróforos y también se considerará la inducción de resistencia física en las plantas denominada resistencia sistémica inducida. Según el autor estas cualidades deben considerarse en los estudios de biorremediación de suelos contaminados.

2.1.5. Aplicación de los biofertilizantes en Sudamérica

La red Latinoamericana de Rizobiología (RELAR) cada año publica los avances científicos más recientes en relación a la aplicación de los biofertilizantes para la agricultura. Esta red la integran por países tales como México, España, Argentina, Uruguay, Colombia, Chile y Perú.

Los países miembros de la red están muy comprometidos con investigación tanto de laboratorio por medio de pruebas fenotípicas y moleculares de microorganismos. Así como como la generación de conocimiento acerca de los efectos en laboratorio e invernadero para futuros ensayos en campo a fin de contribuir con una aplicación más extensiva de los biofertilizantes para el medio ambiente.

ARGENTINA

En Argentina, Corbalán y col (2006) mencionan que desde el año 1957 se inició las actividades de la primera fábrica de biofertilizantes en Argentina. El impulso e incentivo de la producción nacional de biofertilizantes lo dio el desarrollo y continua expansión del cultivo de soja, junto con la información disponible que indicaban los beneficios económicos y ecológicos de la inoculación de semillas con bacterias fijadoras de nitrógeno.

En el cultivo de las leguminosas forrajeras, para leguminosas de grano y no leguminosas se han dado importantes avances en la aplicación de fertilizantes. En la última década se ha registrado un incremento notable de la utilización de semilla “peleteada” o y/o “pildorizadas” cuya incidencia ha llegado al 80% del volumen comercializado en el caso de la alfalfa y entre 50% al 80% según años, para las restantes leguminosas forrajeras. En relación a la aplicación de biofertilizantes, para la campaña 2005/2006, para leguminosas de grano, se estima que el empleo es cercano al 65% del área cultivada con soja lo que implica alrededor de 15 millones de dosis (inoculante requerido para 50Kg de semilla de soja) siendo muy bajo en arveja, maní y poroto. En el caso de la utilización de los biofertilizantes para no leguminosas es mucho más reducida aun, calculándose que en trigo se usan cerca de 200000 dosis (inoculante para 100Kg de semilla) representando un 4-5% del total de área de siembra (Corbalán y col, 2006).

BRASIL

En Brasil la industria de los inoculantes coincide con la historia de expansión de la soya. Desde que este cultivo fue introducido al Brasil en el año 1882. Los investigadores en Brasil tienen como meta la identificación de estirpes más eficientes de fijación de N₂ para cultivos de leguminosas de importancia económica (Hungria y col 2006).

Según Hungría, en la publicación de la Reunión Latinoamericana de Rizobiología (2006), las primeras investigaciones sobre la aplicación de los biofertilizantes se registran desde el año 1956. Desde ese entonces ya se conocía de trabajos que demostraban que existía un gran potencial de la fijación biológica en incrementar los niveles de productividad. La primera cepa adaptada a las condiciones del Brasil fue la cepa SEMIA 566, aislado de un cultivar de soya, la cual había recibido un inoculante importado de Nitragin. Esta cepa era capaz de nodular efectivamente los cultivares utilizados en la época y se recomendó para su uso en inoculantes comerciales en el periodo de 1966 a 1978. En el periodo de 1976 a 1978, se recomendaron las cepas SEMIA 566, SEMIA527 y SEMIA532, no teniendo resultados satisfactorios.

En 1985, se realizó la primera reunión de “Red de Laboratorios para la Recomendación de estirpes de *Rhizobium*”, en la cual se reunió a diversas instituciones de investigación del país y las industrias de inoculantes del ministerio de Agricultura. En esa primera investigación se discutió y estableció el mecanismo para la recomendación de cepas de rizobios o calidad de los mismos a cargo de la RELAR. Además, se decidió a través del IPAGRO (colección SEMIA) a preservar y distribuir cepas para la industria. En los últimos diez años se realizan investigaciones sobre la identificación de cepas microbianas nativas presentes en los suelos del Brasil. Así como, estudios para evaluar la diversidad microbiana de los suelos, en especial de *Rhizobium* aislados de los nódulos de leguminosas y no leguminosas (Hungria y col, 2000).

CHILE

En Chile hay un creciente interés en obtener eficientes y efectivas cepas de *Rhizobium* nativas para la fijación biológica de nitrógeno. En el caso de lupino la simbiosis con bacterias de género *Rhizobium lupini*, *Bradyrhizobium* sp, las cuales suministran a las plantas entre el 67 y 68% del requerimiento de nitrógeno total y hacen necesaria la fertilización química con nitrógeno para lograr altos rendimientos (Parada y col, 2006). La asociación lupino-*Rhizobium* puede suministrar al suelo 227 Kg de N/ ha. Ello conduce a un ahorro significativo de fertilizantes nitrogenados y una importante contribución a la sustentabilidad de los ecosistemas productivos en el tiempo.

El uso de los biofertilizantes con fines agrícolas en Chile está restringido a bacterias del género *Rhizobium*, como biofertilizantes de granos y forrajeras. En el cultivo de palto, para exportación se utilizan hongos micorrízicos. En Chile aún hace falta la producción a gran escala, comercialización y control de calidad de los inoculantes.

PERÚ

En el Perú, Zuñiga en el año 2006 sostiene “La producción de biofertilizantes para diferentes leguminosas de grano y de pastos altoandinos se lleva a cabo por diversas instituciones de investigación. Una de las instituciones más antiguas que produce biofertilizantes es la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga en Ayacucho, el nombre del producto es Rizomack”, investigaciones realizadas en leguminosas de grano y para pasturas como las realizadas por Santillana (2007)”. En relación a los ensayos en campo, entre los años 2003-2006, en el Instituto Rural Valle Grande de Cañete-Lima se inocularon aproximadamente 400 hectáreas/año con una cepa de rizobio, para el cultivo de holantao (*Pisum sativum* var. macrocarpum), con fines de exportación (Zúñiga, 2006). Por su parte, Paima (2005) aplicó también la cepa *Rhizobium* codificada con P1C1N1, el ensayo se realizó en el campo. Así como *Bradyrhizobium* aplicados en campos de Ica con resultados prometedores (Mayo y Hernández, 2002). La investigadora sostiene también que “En los últimos veinte años en el Perú, se han realizado importantes

investigaciones relacionadas al aislamiento, caracterización y selección de bacterias benéficas para la agricultura”. El Laboratorio de Microbiología Marino Tabusso (LMMT), con el apoyo del Consejo Nacional de Tecnología (CONCYTEC) han realizado numerosos proyectos de investigación sobre los microorganismos fijadores de nitrógeno de forma libre o en simbiosis para el cultivo de frijol (Gonzales, 2013), pallar (Matsubara, 2010). (Ver Cuadro 2).

Cuadro 2. Investigaciones sobre diversos microorganismos aplicados a diversos cultivos en condiciones de laboratorio (LMMT) del Perú

Microorganismo	Cultivo	Resultados	Año
<i>Rhizobium</i>	Frijol	Incremento en el peso seco de nódulos, raíz y biomasa y el nitrógeno total de la planta.	Gonzales (2013)
<i>Bradyrhizobium</i>	Pallar	Incremento el peso seco de los nódulos y peso seco de parte aérea	Matsubara (2010)
<i>Bacillus</i>	Papa	Incremento significativo del peso seco de la parte aérea.	Calvo (2008)
<i>Bacillus</i>	Tara	Incremento de la materia seca de la parte aérea con respecto al control sin aplicar biofertilizante.	Ogata (2008)
<i>Actinomicetos</i>			
<i>Rhizobium</i>	Haba	Incrementó el peso seco de nódulos, mejoró el rendimiento de las semillas en campo	Santillana (2007)
<i>Bradyrhizobium</i>	Pallar	Incremento del crecimiento del cultivo	Velazquez (2007)
<i>Rhizobium</i>	Tomate	Incrementó el peso seco de la parte aérea y radicular.	Santillana (2005)
<i>Rhizobium</i>	Frijol	Incremento en el peso seco de nódulos, raíz y biomasa y el nitrógeno total de la planta.	Zúñiga (1997)

Fuente: Elaboración propia

Los estudios realizados por los investigadores en Latinoamérica, en Brasil, Argentina, Chile, México confirman que la aplicación de los inoculantes es una alternativa viable de aplicación a gran escala. En nuestro país la aplicación en campo se realiza aún en pequeñas parcelas o con fines de investigación. Los investigadores del Perú, entre los años 1997 al 2013 debido a la creciente evidencia científica, coinciden que las bacterias *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* son las cepas recomendadas en campo. Las primeras para cultivos del frijol y la segunda para el cultivo de pallar. Además, también se sugiere su aplicación como promotores de crecimiento vegetal. Así también, es importante resaltar los estudios realizados en Cuba en relación a la aplicación de los biofertilizantes y sus efectos en cultivos de leguminosas y no leguminosas (González y col, 2000).

Cuadro 3. Microorganismos empleados como biofertilizantes cultivos y beneficios en Cuba

Microorganismos	Cultivos	Beneficio
<i>Rhizobium</i>	Frijol, maní, Vigna y abonos verdes	Pueden sustituir 75-80% del fertilizante nitrogenado mediante su actividad de nitrógeno atmosférico.
<i>Bradyrhizobium</i>	Soya y leguminosas forrajeras	Permiten sustituir hasta el 80% de las necesidades de nitrógeno de estos cultivos.
<i>Azotobacter</i>	Hortalizas, yuca, boniato, maíz, arroz, plátano, cítricos, entre otros cultivos	Suministrar a las plantas entre el 15-50% de sus necesidades de nitrógeno mediante la FBN, y producen sustancias activas
<i>Azospirillum</i>	Arroz, caña de azúcar y pastos.	Sustituyen el 25% de nitrógeno aplicado al arroz
Micorrizas arbusculares	viveros de café	Reducen las necesidades de fertilizantes nitrogenados y potásicos en suelos cubanos.
Solubilizadores	Hortalizas, yuca, boniato, viveros de café, viveros de plantaciones de cítricos	Permiten reducir entre 50-80% las necesidades de fertilizantes fosfóricos, al mismo tiempo que son capaces de estimular los rendimientos

Fuente: González (2000)

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Clasificación taxonomía y características de *Rhizobium*

Clasificación taxonómica

La publicación realizada por Rivas y col (2009) registran la información generada en los últimos años en base a las secuencias del gen de 16S ARNr. En base a este estudio se han encontrado al menos 33 especies. Según los investigadores la clasificación taxonómica es la siguiente:

Phylum: Proteobacteria

Clase I: α -*Proteobacteria*,

Orden: Hyphomicrobiales

-Familia: Rhizobiaceae: *Rhizobium* y *Ensifer*,

-Familia: Phylobacteriaceae: *Mesorhizobium*

-Familia: Bradyrhizobiaceae:

Bradyrhizobium, *Blastobacter*

-Familia: Hyphomicrobiaceae: *Azorhizobium*, *Devosia*

-Familia: Brucelaceae: *Ochorobactrum*

- Familia: Methylobacteriaceae: *Methylobacterium*

Características generales de las bacterias *Rhizobium*

Las bacterias *Rhizobium*, son bacterias GRAM (-), poseen la capacidad de fijar nitrógeno en forma simbiótica. El género *Rhizobium* fue descrito por Frank en 1889, como bacterias gram negativas noduladoras de leguminosas y en *Parasponia*, no leguminosa. Su nombre enfatiza la particularidad que tiene de nodular las raíces (rhiza: raíz, bius: vida, *Rhizobium*: vida en las raíces). Ver figura 1 y 2.



Figura 1. Bacteria del género *Rhizobium*

Según Aguirre *et al* (2009), las bacterias del género *Rhizobium* en simbiosis con las raíces de frijol fijan aproximadamente entre 25-71 Kg N/ha en España y según Mora (1995), menciona que se ha demostrado que entre un 25 y un 75% de N requerido por la planta proviene de la fijación simbiótica de nitrógeno por *Rhizobium* en frijol es de 25-125KgN/ha en Costa Rica.

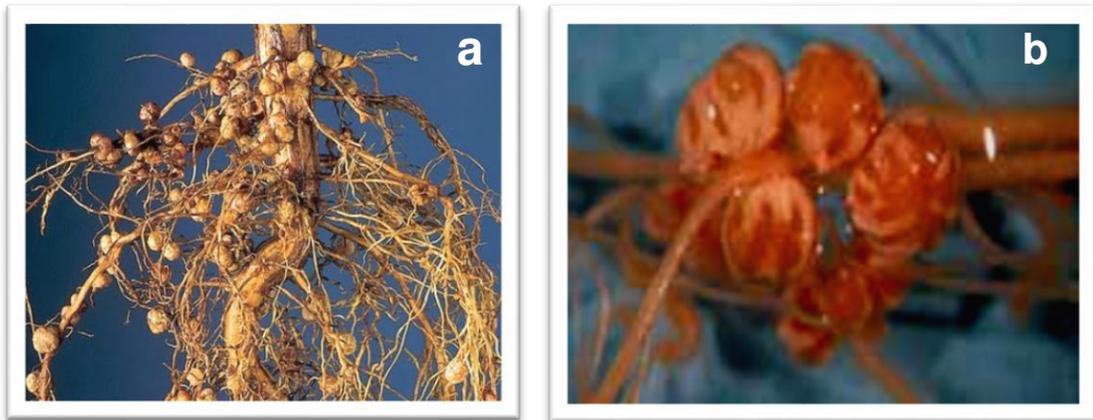


Figura 2. La asociación simbiótica del *Rhizobium* y las leguminosas a) Leguminosa con presencia de nódulos en raíces de frijol b) morfología de los nódulos formados por *Rhizobium*

2.2.2 *Rhizobium* como biofertilizante

Las bacterias del género *Rhizobium* han obtenido resultados prometedores a nivel de laboratorio en el Perú. Santillana (2007), docente e investigadora de la Universidad San Cristóbal de Huamanga, realizó la caracterización fenotípica de cepas de *Rhizobium*, aislados de suelos de Ayacucho del cultivo de haba (*Vicia faba*). La misma autora realizó la aplicación de un biofertilizante en base a las bacterias *Rhizobium* para el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*).

Matsubara (2010) logra importantes aportes al conocimiento de los fijadores de nitrógeno en especial el estudio de las bacterias *Bradyrhizobium* aislados del cultivo del pallar (*Phaseolus lunatus*). El investigador obtuvo 72 cepas de *Bradyrhizobium* a partir de nódulos colectados en los campos del Valle supe. En el ensayo en plantas 6 cepas lograron incrementos significativos de peso seco con respecto al tratamiento con N-.

Así mismo, Gonzales (2013), se identificó, purificó y aplicó trece cepas aisladas de nódulos de tres variedades de frijol común (*P. vulgaris* L.), provenientes de suelos de La Molina. En este estudio se evidenció el efecto benéfico del inoculante por medio de la inoculación de semillas pregerminadas en laboratorio. En dicho experimento el 84.6% de las cepas de 48h formando nódulos efectivos e infectivos en *P. vulgaris* var. 'Canario Centenario'. En el ensayo realizado en invernadero, cinco cepas tuvieron incrementos estadísticamente significativos del peso seco de la parte aérea con respecto al control N-($p < 0.05$). Además, todas las cepas aisladas fueron capaces de producir ácido indolacético (AIA) y solubilizar el fosfato tricálcico del medio de cultivo para solubilizadores de fosfato, características de cepas promotoras de crecimiento vegetal. Las mencionadas cepas actualmente se emplean como biofertilizante para leguminosas y se están realizando más estudios complementarios de biología molecular de las cepas mencionadas.

2.2.3 *Rhizobium* como promotor de crecimiento vegetal PGPR

Rhizobium y *Bradyrhizobium* son bien conocidos como microorganismos simbióticos de leguminosas, que forman nódulos que fijan nitrógeno. Sin embargo esta bacteria también comparte muchas características con las bacterias PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) o *Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal*. Los rizobios pueden producir fitohormonas, sideróforos, HCN, solubilizar económicamente los fosfatos inorgánicos y orgánicos, y ellos pueden colonizar las raíces de muchas plantas no leguminosas bajo condiciones *in vitro* (Antoun y Prevost, 2005).

La materia seca del rábano se incrementó por la inoculación de cepas de *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium leguminosarum* bv, *phaseoli*, *R. leguminosarum* bv. *trifolli*, *R. leguminosarum* bv. *viciae* y *Sinorhizobium meliloti* En diversos estudios realizados en campo entre el año 1985 y 1993, Höflich et, al(1994) observaron que la inoculación de la cepa R39 de *R. leguminosarum* bv. *trifolli*, estimuló significativamente ($p < 0.05$) el peso seco de raíz de maíz, trigo (*Triticum aestivum* L) y cebada (*Hordeum vulgare* L.) En el Cuadro 3, se aprecian los estudios realizados en condiciones de invernadero (Antoun y Prevost, 2005).

Por su parte Verma et al (2010) realizaron una serie de investigaciones en relación a los bioinoculantes mixtos y sostienen que las interacciones entre especies del género *Rhizobium* con otras bacterias con cualidades promotoras de crecimiento tales como, *Pseudomonas*, *Azospirillum* y *Bacillus* para frijol, alfalfa, garbanzo, y pastos. En otro estudio se empleó *Rhizobium*, *Pseudomonas fluorescens*, *B. megaterium* y *A. chroococcum*, generando incrementos significativos de peso de nódulos, raíz y biomasa de brotes, total de nitrógeno de la planta debido a la coinoculación.

Cuadro 3. Estudios de *Rhizobium* como promotor de crecimiento vegetal

<i>Bacteria</i>	<i>Cultivo(s)</i>	<i>Efecto estimuladorio</i>	<i>Año</i>	<i>Condiciones</i>
<i>Rhizobium leguminosarum</i> <i>bv. trifolii</i> (R39)	Maíz Trigo Cebada	Mayor rendimiento de materia seca	1994	En campo
<i>R. leguminosarum</i> <i>bv. phaseoli</i> (bacteria Solub. de fosfato)	Maíz Lechuga	Estimulación del crecimiento del maíz y lechuga	1996	En campo
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (Soy213)	Rábano	60% superior con respecto al control	1998	En invernadero
<i>S. meliloti</i>	Lechuga	Estimulación del crecimiento de plantas micorrizadas	2000	-
<i>Rhizobium leguminosarum</i> <i>bv. Trifolii</i>	Trigo	Incremento de 16% de materia seca de retoños 23 a 25% mayor rendimiento de granos respecto al control	2001	En recipientes
<i>Mesorhizobium mediterraneum</i> PECA 21	Cebada	Incremento de materia seca y contenido de N,K, Ca, y Mg	2001	En recipientes
<i>Rhizobium giardinii</i> y <i>S. meliloti</i>	Papa	Endófito	1995	-
<i>B. japonicum</i>	Algodón	Endófito	2002	-
<i>R. etli</i>	Maíz	Endófito	2001	-

Fuente: Antoun y Prevost (2005)

2.2.4 Clasificación taxonómica y características de *Azotobacter*

Taxonomía de *Azotobacter*

Según Kennedy (2005), la clasificación taxonómica de *Azotobacter* es la siguiente:

Phylum: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Pseudomonadales

Familia: Pseudomonadaceae

Género: *Azotobacter*

Características generales de las bacterias *Azotobacter*

Estas bacterias fueron descritas por primera vez en 1901 por Beijerinck. La morfología que presentan es muy variable, cambia en función a las condiciones ambientales. Bajo condiciones de estrés forman unas estructuras llamadas quistes de resistencia (Rico 2009).

Kennedy (2005) sostiene que “las células bacterianas de *Azotobacter* pueden tener forma bacilar con bordes romos hasta elipsoidales y cocoides, a su vez pueden formar ciertos arreglos celulares como cadenas o pares, las formas dependen de cultivo. Las dimensiones de sus células pueden ser de 1.6 -2.7 μm de diámetro por 3.0 -7 μm de longitud”.

El investigador Cardona (1998) sostiene que son células grandes y bacilares de 2-3 μ x 2-6 μ , alargadas o aplanadas, son gran negativas, algunos autores las consideran pleomórficas, móviles con flagelación peritrica o polar y aerobias obligadas. No producen esporas, pero en condiciones de presencia de butanol pueden producir quistes esféricos que capacitan a las células a vivir en ambientes secos y sobrevivir a las radiaciones durante su dispersión en el suelo.

El género *Azotobacter* Son bacterias de forma bacilar, Gram (-). Se diferencia de *Azomonas* que la primera presenta quistes. Las especies que se conocen son *A. chroococcum*, *A. vinelandii*, *A. beijerinckii*, *A. paspali*, *A. armeniacus*, *A. nigricans* y *A. salinestrus*. El género *Azomonas* comprende tres especies *A. macrocytogenes*, *A. agilis* y *A. insignis* (Jimenez, 2007) [Ver figura 3].

Los miembros de esta familia tienen la capacidad de sintetizar antibióticos y generar sustancias de crecimiento vegetal. En especial *A. chroococcum* y *A. vinelandii* son utilizadas como bioinoculantes en suelos tropicales y alcalinos. Del mismo modo, muchos miembros de esta familia, son usados para la producción de compuestos de interés comercial como los polisacáridos, vitaminas y pigmentos.

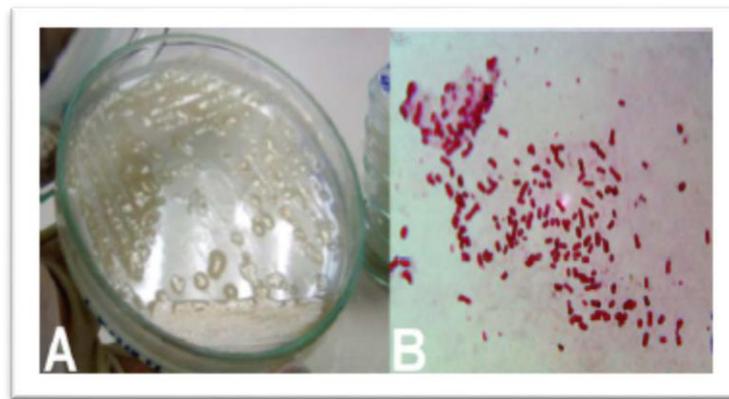


Figura 3. Características de cepas *Azotobacter* a) Colonias de *Azotobacter* en medio libre de nitrógeno b) Morfología de sus células

Las células de *Azotobacter* son ovoides y miden aproximadamente de $2\mu\text{m}$ a $4\mu\text{m}$ de diámetro, siendo el de mayor tamaño las de *A. chroococcum* que llegan a $6\mu\text{m}$ puede llegar a formar cadenas de tamaños variables y formar quistes de resistencia. Son aeróbicos y pueden vivir a tensiones baja de oxígeno y su movilidad de debe a flagelos peritricos y los pigmentos que producen los cuales son solubles en agua. (Cuadro 6).

En relación a los requerimientos para el crecimiento de *Azotobacter*, Cardona (1998), sostiene que las cepas *Azotobacter* requiere humedad y aireación adecuadas, crece en presencia de nitrógeno combinado, pero éste impide la fijación de N. Presenta la mayor velocidad de respiración de todos los seres vivos (velocidad de consumo de O₂). La eficiencia de fijación de N, en *Azotobacter* es del 1 al 2%, o sea que fija de 10mg - 20 mg de N, por gramo de fuente de carbono consumida, aunque en casos excepcionales *A. chroococcum* fija de 20 a 30 mg de N, por cada gramo de glucosa que consume.

En el suelo, las cepas de *Azotobacter* tienen un buen crecimiento en ambientes con alto contenido de materia orgánica, con cantidades óptimas de fósforo y potasio. Este microorganismo requiere temperaturas de 28°C a 30°C para su crecimiento y un pH óptimo entre 6.5 y 7.5. Sin embargo también se ha aislado de suelos de pH 4.5 hasta 8.5. Su principal fuente de energía es el manitol, disponibilidad de calcio, magnesio y molibdeno (Cardona, 1998)

Rodríguez y col (2016) y Jnwalli (2015) mencionan que las bacterias del género *Azotobacter* tienen la potencialidad de fijar nitrógeno atmosférico, solubilizar elementos minerales y producir un grupo de sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal. De manera similar Bonilla y col (2013), señalan que la bacterias de este género tienen varias actividades metabólicas de interés como: la fijación de nitrógeno de vida libre, solubilización de fosforo, producción e sustancias promotoras de crecimiento vegetal, degradación de hidrocarburos. Además, del control de hongos fitopatógenos. Según Dev et al (2015) producen sustancias fungistáticas con amplio espectro activo contra los hongos *Fusarium*, *Aspergillus*, *Helminthosporium*, *Alternaria*, *Cephalosporium*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium rolfsii*.

2.2. 5 *Azotobacter* como biofertilizante

En Cuba se desarrolló, desde 1990, un programa de fabricación y aplicación de *Azotobacter* a base de cepas seleccionadas que son capaces de suministrar hasta 50% de los requerimientos de nitrógeno de las plantas mediante la fijación biológica, lo que permite ahorros considerables de fertilizantes químicos, al mismo tiempo que se reduce la contaminación ambiental y los daños a la salud humana ya que se disminuyen las elevadas proporciones de nitratos en los cultivos agrícolas (González, 2000).

Sánchez-Yáñez (2014) realizó un estudio de coinoculación de *Azotobacter* y *Burkholderia* la aplicación se realizó en semillas de maíz, comparó la inoculación de las cepas individuales, la coinoculación, todos con un porcentaje de 50% de nitrógeno (5g/L), nitrato de amonio NH_4NO_3 ; un tratamiento al 100%(10g/L) de nitrato de amonio NH_4NO_3 y un tratamiento con agua destilada. En el experimento realizado se llegó a la conclusión que el peso seco de raíz del maíz del tratamiento coinoculado fue mayor al tratamiento control sin inocular. El tratamiento coinoculado contenía el 50% de nitrógeno es decir el nitrógeno relativo. Por lo que se sugiere su aplicación, debido a las síntesis de sustancias promotoras de crecimiento vegetal (SPCV) junto con un contenido mínimo de nitrógeno para obtener un crecimiento óptimo del cultivo de maíz.

Así mismo, Hernández y Chailloux (2001) afirma que *Azotobacter chroococcum* es uno de los principales fertilizantes que se aplica en Cuba para el cultivo de hortalizas, granos y viandas. Así por ejemplo, González (2000) observó el papel estimulador de *Azotobacter chroococcum* en el crecimiento de raíces, área foliar, altura y desarrollo de las plántulas en general, en cultivos como café, tomate, frutales y cebolla fue reportado en diversas investigaciones. De forma similar Antoun y Prevost (2005) en Canadá, sostienen que las bacterias *Azotobacter*, en estudios de interacción de *Azotobacter* y *Azospirillum*, evidenciaron incremento de la producción de varias especies de leguminosas, tales como, soya, alfalfa, garbanzo, arveja trébol, habichuela.

2.2.6 El cultivo del tarwi (*Lupinus mutabilis*)

Según Rodríguez (2009), el tarwi posee las siguientes categorías taxonómicas:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Dicotiledóneas

Orden: Rosales

Familia: Leguminosas

Género: *Lupinus*

Especie: *mutabilis*

Nombre científico: *Lupinus mutabilis* Sweet

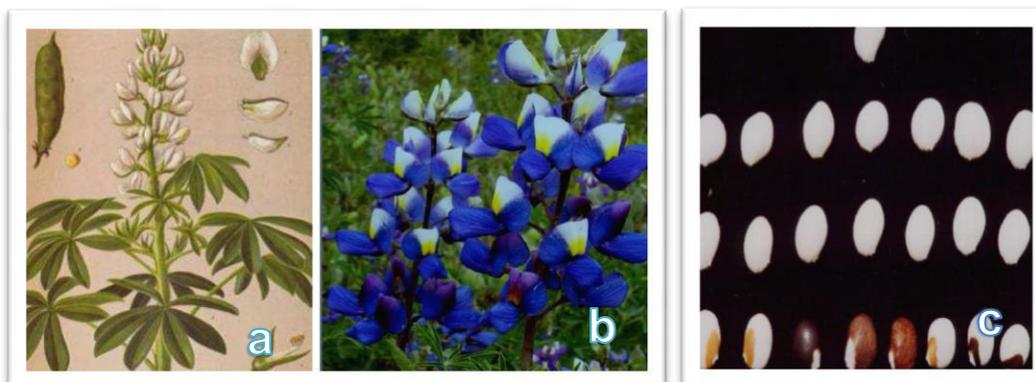
Nombre común: Tarwi, chocho

Origen

El chocho o tarwi es una leguminosa originaria de los Andes de Bolivia, Ecuador y Perú, tiene relevancia gastronómica en esos países desde la época prehispánica. Su alto contenido de proteínas mayor que el de la soja, lo hace una planta de interés para la nutrición humana y animal (Rodríguez 2009). En base a las evidencias de Antúnez de Mayolo (1981), el tarwi ya se conocía en la cultura Nazca (100 a 500 a. C.), por los restos semillas encontrados. En el sur, en los vasos ceremoniales de la cultura Tiahuanaco (500-1000 d.C),

Características del cultivo

Rodríguez (2009) describe las características de las hojas y tallo del tarwi. Las hojas del tarwi son compuestas por ocho folíolos que varían de ovalados a lanceolados. En la base del peciolo existen pequeñas hojas estipulares, que se consideran rudimentarias. Se diferencia de otras especies de *Lupinus* en que las hojas tienen menos vellosidades. En relación a la altura de la planta, esta posee un eje principal que varía entre 0.5 a 2 m. Su tallo es muy leñoso y se puede utilizar como combustible. Su alto contenido de fibra y celulosa hace que se emplee como material de combustión.



**Figura 4. Características del cultivo de tarwi a) Tallos, inflorescencia y hojas
b) flores c) semillas**

Valor nutritivo del tarwi

Según Jacobsen y Mujica (2006) “las semillas son excepcionalmente nutritivas. Las proteínas y aceites constituyen más de la mitad de su peso, estudios realizados en 300 genotipos muestran que la proteína varía de 41-51% y el aceite de 14-24%”. En el siguiente cuadro podemos apreciar la composición de diferentes tipos de *Lupinus*.

Cuadro 4. Contenido nutricional de diferentes especies de *Lupinus**

Especies	Proteínas	Aceites	Cenizas	Fibras
<i>L. albus</i>	38.2	9.5	3.1	14.0
<i>L. angustifolius</i>	28.9	6.6	3.2	17.6
<i>L. consentinii</i>	32.2	2.6	3.7	-
<i>L. hispanicus</i>	48.2	5.8	2.9	19.6
<i>L. luteus</i>	49.2	4.8	5.3	17
<i>L. mutabilis</i>	46.6	15.8	3.6	9.0

* Todos los datos expresados en g por 100g de materia seca

En base a la investigación realizada por Camarena y col (2012) se indica que las proteínas del tarwi son mayores al contenido de la soya, el contenido de proteína del tarwi puede llegar a 44% de proteína mientras que la soya puede llegar a 35%. ,se compara al tarwi con la soya y el frijol y se concluye que el tarwi tiene menos carbohidratos 28.2g promedio por 100g de muestra en comparación con la que la soya y frijol con valores de 35.5g y 60.8g respectivamente.

Requerimientos del cultivo de tarwi

En la tesis realizada por Aguilar (2015) sostiene que el tarwi es un cultivo que se adecua a climas fríos. Se cultiva en Perú y Bolivia hasta los 4000 msnm. Así se han encontrado ecotipos a temperaturas debajo de los 9.5°C. Así como a temperaturas debajo de los -4°C, en etapa de floración. En la fase de crecimiento las temperaturas de 20°C y 25°C son óptimas. Sin embargo temperaturas superiores a 28°C pueden afectar el desarrollo de la planta. En el cuadro 5 , se complementa los diverso requerimientos que necesita el cultivo, que deben considerarse en los estudios en invernadero y en campo.

Usos del tarwi

Jacobsen y Mujica (2006) menciona que en el Perú el tarwi se emplea en diversas regiones y su consumo es principalmente como guisos de tarwi, postres. Industrialmente se obtiene harina, en un 15% en panificación da excelente resultados, posee bajo contenido en grasas. En estado de floración se emplea como abono verde, mejorando considerablemente la cantidad de materia orgánica, Debido a la estructura y retención de la humedad del suelo. Por su contenido en alcaloides se emplea como cerco vivo, actuando como repelente. Los residuos de las cosechas (tallos secos) se emplean como combustible por su gran contenido de celulosa. En el siguiente cuadro se aprecian características adicionales de campo.

Cuadro 5. Condiciones para el cultivo de tarwi (*Lupinus mutabilis*) en el campo

Información	
Humedad ambiental	El tarwi se abastece de agua en épocas lluviosas, condiciones de lluvia. Camarena et al (2012) el tarwi es susceptible al exceso de humedad y moderadamente susceptible a la sequía durante la floración y llenado de vainas. Estos excesos de agua pueden provocar la caída de flores y frutos.
Precipitación	El tarwi debe tener entre 500 y 700 mm de lluvia, el periodo de mayor necesidad de agua es en la época de floración y frutos. Según Carrión (1988) esta especie requiere muy poca agua y puede crecer en ambientes que no utilizados en la agricultura (Aguilar, 2015).
Preparación del terreno	En el Perú, el tarwi se siembra en suelos de labranza cero, solo se remueve el suelo con lampilla o picota
Siembra	Siembra se realiza en condiciones de lluvia, al voleo, también en surcos de 50-60cm. Mejores rendimientos: método por surcos entre 60-80 Kg semilla/Ha.
Fertilización y abonamiento	No requiere de fertilización. Lo que se aplica habitualmente es el guano de corral.
Labores culturales	Requiere de poca atención, salvo en las primeras semanas de brote. Se dan las labores de limpieza del terreno
El riego	El riego será indispensable para una buena germinación, un buen crecimiento de la planta, buena floración, llenado de vainas y por ende un buen rendimiento. Lluvias 400-800 mm. Susceptible a las sequías durante la formación de flores y frutos, afectando seriamente la producción
Plagas	En sus primeros días el tarwi es susceptible a los cortadores de cuello, los insectos <i>Feltia spp</i> y <i>Agrotis sp</i> . El gusano celeste del tarwi es otra de las plagas de importancia.
Enfermedades	Es relativamente tolerante a enfermedades fungosas, en condiciones ambientales húmedas presentan problemas como la roja y la antracnosis.

Fuente: Aguilar (2015)

2.2.7 El cultivo de frijol caupí (*Vigna unguiculata*)

2.2.7.1 Clasificación Taxonómica

Según Alban (2012), el cultivo de caupí está clasificado en las siguientes categorías taxonómicas:

Reino: Vegetal

Clase: Angiosperma

Subclase: Dicotyledoneae

Orden: Leguminosae

Familia: Fabaceae

Género: *Vigna*

Especie: *unguiculata*(L) Walp,

Nombre científico: *Vigna unguiculata*

Nombre común: Caupí, castilla, chileno

2.2.7.2 Origen

León (1987), menciona que el caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp), es originario de África Occidental y Central, desde Senegal hasta Etiopía, con mayor diversidad en Etiopía. Del África pasó a la India unos 1000 a 1500 a. c, en donde se formó un centro secundario de variabilidad del cual se derivan muchos de los cultivares modernos.

Esta es una especie de cultivo limitado en España y Portugal que se encuentra asociado a *Phaseolus vulgaris*, en poblaciones mixtas, donde recibe nombres como "caupí" (derivado del "cow pea" inglés), judía carilla, judía de vaca, frijol de fraile y "feijão frade", en Sudamérica se encuentra casi siempre asociada con maíz (De Ron, 2004).

2.2.7.3 Características del cultivo

Según Aguirre (2009) el caupí es una leguminosa anual, erecta, semi-erecta y rastrera, de unos 40 cm de altura, con semillas grandes, flores racimosas de color púrpura azulado o blanco, hojas verdes ovales a cordiformes y planas. Sus legumbres poseen de 10 a 15 semillas por vaina. Sus semillas son de diferentes colores, blancos, marrón y crema. Posee múltiples usos, tales como abono orgánico, rotación de cultivos.

Por su parte Alban (2012) estudia las características de la raíz, tallos y hojas del frijol caupí. Afirma que su raíz es profunda y pivotante (hasta 1.95m), con abundantes ramificaciones laterales. Sus raíces alcanzan una longitud de 1.40m, por lo que la planta puede absorber una mayor cantidad de nutrientes que los frijoles comunes crecen los nódulos que son protuberancias donde viven las bacterias *Rhizobium* que son las encargadas de fijar nitrógeno del aire y que la planta utiliza para su nutrición. Sus tallos son de forma cilíndrica (sin pubescencia). Los tallos del caupí poseen un número variado de entrenudos. Sus hojas cuando están en su estado embrionaria son unifoliadas y crecen de manera opuesta las hojas verdaderas son trifoliadas. Los foliosos pueden ser lineales, lanceolados u ovalados.

Por otro lado las características de su inflorescencia, fruto y semillas. Su inflorescencia es en racimo, sus flores están constituidas por 5 pétalos, los cuales tienen nombres específicos, estandarte, dos alas y dos pétalos soldados que forman la quilla. Sus frutos son vainas lineales o encorvada que alcanza una longitud de 10 a 25 cm y de 1.5 a 3.2cm de diámetro, contiene de 6 a 21 granos por vaina.

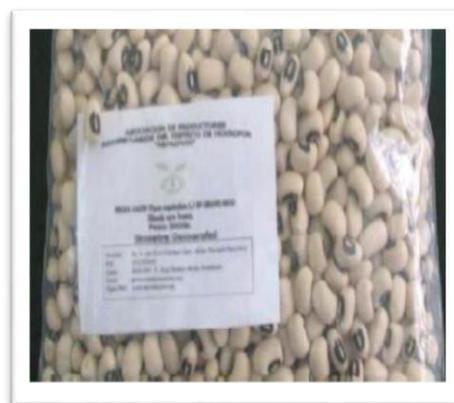


Figura 5. Flores del caupi (*Vigna unguiculata*)

Las vainas pueden ser de color verde o presentar moteados púrpura o rojizo. Generalmente por cada tallo floral solo 2 o 3 flores se convierten en vainas y el lapso en que se desarrolla las semillas en las vainas es de 20 a 25 días. Finalmente sus semillas comprenden dos cotiledones, el embrión y el hilo u ojo de semilla. Sus semillas pueden ser de color marrón rojizo, negro y su forma redonda, oval y cuadrada.



(a)



(b)

Figura 6. Características del cultivo del frijol caupi (a) vainas y (b) semillas

Cuadro 6. Requerimientos del frijol caupí o castilla en el campo

	Información
Clima	Adaptado bien a clima de valles centrales, usualmente no se desarrolla bien en áreas lluviosas. Las cuales las pueden dañar o retrasar la cosecha. De climas cálido, resistente a sequía
Suelo	Se adapta muy bien a suelos ligeros, arenosos y limosos. La temperatura del suelo a 21°C favorece el desarrollo de la planta.
Fechas de siembra	Se siembra en la Costa durante la primavera y verano y en la Selva en los meses de Junio y Julio
Temperatura para el crecimiento de la planta	Prefiere climas cálidos, es tolerante a altas temperatura por lo que se ha adaptado muy bien a Valles de la costa. Prospera entre 25°C a 35°C, cuando se exponen a 5 °C a 10°C son susceptibles.
Agua	Es sensible al estrés de humedad como a varias horas de saturación de suelo. En ambos casos pueden afectar la fijación de nitrógeno
Precipitaciones	Precipitación óptima: 600 mm/año Precipitación no óptima :600 y 1500 mm/año
Rendimientos	26020 a 3660 Kg/ha (Según la FAO) 1.5 a 3.0 tn/ha (Camarena, 1994)
Etapas de crecimiento	<i>Etapas vegetativa</i> Desde Vo Germinación hasta la V4:tercera hoja trifoliada <i>Etapas reproductiva</i> R5: Prefloración hasta R9:Último desarrollo para el secado con vainas

Fuente: Palomino (2015)

En el cuadro 6, se aprecian las principales condiciones para el cultivo de frijol caupí en campo, lo cuales serán necesario para el conocimiento adecuado del cultivo antes de su siembra en las macetas en la siguiente investigación.

2.2.8. Aplicaciones del cultivo

El cultivo de frijol caupí, en el continente americano es muy consumido debido a su alto contenido nutricional. Además de la alimentación humana, se puede emplear como abono verde, cobertura, heno, ensilaje. Se utiliza además para alimentación de vacas y aves de corral por su excelente ensilaje, junto a otros cultivos como el sorgo, frijol o forraje. Debido a su alto contenido de proteína, de alta digestibilidad y buena producción de forraje se utiliza para alimentación en países en vías de desarrollo en reemplazo del frijol (Trujillo y col, 2016).

2.3 Marco conceptual o glosario

2.3.1 Azotobacter

La bacteria *Azotobacter* es uno de los primeros géneros conocidos como fijadores asociativos de nitrógeno. Su nombre proviene de la palabra francesa “asoto” que significa nitrógeno y del griego “bacter” que significa bacilo y según esos autores son microorganismos de vida libre de suelo que requieren de sustancias orgánicas como fuente de energía, pero si hay abundancia de NO_3^- y NH_4^+ , lo emplean con facilidad y no fijan nitrógeno. Son bacterias Gram negativas, motiles; las colonias son viscosas, convexas, lisas o arrugadas y poseen pequeñas inclusiones granulares, el color se presenta en diferentes matices de pardo, producen pigmentos que en ocasiones se difunden en el medio de cultivo (Agar-Asbhy) selectivo para este género (González, 2000).

2.3.2 Rhizobium

Su nombre enfatiza la peculiaridad que tiene de nodular las raíces (rhiza:raíz, bius: vida, *Rhizobium*: vida en las raíces. Es una bacteria gram (-), de 0.5 -1.0 y 1.2 - 3.0 μm . Se mueven por medio de flagelos peritricales y subpolares. Según el Manual Bergey de bacteriología Sistemática pertenece a la familia Rhizobiaceas, incluye cinco géneros: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Phyllorhizobium* y *Agrobacterium*. El género *Rhizobium* incluye cinco especies. Son quimiorganótrofas, pues crecen en medios con amplias fuentes de carbono (Wang, 2002). Su tiempo de generación es de 2 a 4 horas en un medio LMA (Levadura Manitol Agar).

2.3.3 Agricultura sustentable

Según el Comité Internacional sobre la Investigación agrícola publica en 1988 un artículo sobre la agricultura sustentable definiéndola como el manejo exitoso de los recursos agrícolas para satisfacer las necesidades humanas, mientras se mantiene la calidad del ambiente y se conservan los recursos naturales. Uno de los elementos más importantes utilizados para lograr una agricultura sustentable es el uso de biofertilizantes (González, 2000).

2.3.4 Biofertilizantes

El término biofertilizantes es conocido también como “microorganismo inoculante”, se define como un preparado que contiene células vivas o células latentes eficientes en la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato o organismos celulíticos utilizados para aplicarlos en las semillas, suelo o áreas de compostaje con el objetivo de incrementar el número de tales microorganismos y acelerar ciertos procesos microbianos y aumentar el grado de formas disponibles para las absorción de las plantas a través de la asociación simbiótica (Mohammadi y Sohrabi, 2012).

Los biofertilizantes están formados por grupos microbianos, se consideran como una biotecnología “apropiable”; debido a que, constituyen una herramienta técnicamente factible dentro del nivel científico –técnico de un país y proveen beneficios a los destinatarios, son ambientalmente seguras, socioeconómica y culturalmente aceptables (González, 2000).

2.3.5 Fijación biológica de nitrógeno (FBN)

La fijación biológica es el proceso de captación del nitrógeno atmosférico, con este proceso se capta alrededor de 60% del nitrógeno disponible en la tierra y representa una alternativa económica benéfica y ambiental al uso de fertilizantes químicos. Se estima que la fijación es de 200 millones de toneladas al año, es decir dos veces la producción de fertilizantes nitrogenados a partir de la síntesis industrial (Baca y col, 2000). Entre los organismos que realizan la FBN se encuentran: bacterias, algas verdes-azules (cianobacterias) y actinomicetos, los cuales pueden fijar el nitrógeno libremente o formar asociaciones. Dentro de las bacterias fijadoras de nitrógeno que son de vida libre se encuentran: anaerobias obligadas o facultativas (Ejm: *Clostridium pasteurianum*, *Klebsiella* spp., *Desulfovibrio* sp.), aeróbicas obligadas (ejemplo *Azotobacter* spp, *Beijerinckia* sp.) y fotosintéticas (bacterias púrpuras sulfurosas y no sulfurosas, y bacterias verdes sulfurosas (Allan y Graham, 2002).

2.3.6. Eutrofización

La eutrofización se define como un proceso el cual los nutrientes que vienen de la agricultura llegan a los cursos de agua en cantidades excesivas; lo cual generan efectos negativos en el balance natural de los ecosistemas. La incorporación de nutrientes (fósforo y nitrógeno) estimula el crecimiento de las algas. Se genera un excesivo crecimiento de algas y la reducción de plantas acuáticas. Estas aguas pueden contener toxinas liberadas por las cianobacterias (Cazalas, 2004).

2.3.7. Las bacterias promotoras de crecimiento (PGPRs)

Son bacterias que colonizan las raíces y generan una población tal que tienen un efecto benéfico en ellas. Los mecanismos exactos no se conocen pero existen varias hipótesis entre ellas: i) La habilidad para producir cambios en la concentración de ácido indolacético, giberelinas, citocininas y etileno ii) Fijación asimbiótica de nitrógeno, iii) Antagonismos frente a microorganismos fitopatógenos por producción de sideróforos antibióticos y cianida, iv) solubilización de fosfato y otros minerales. Hay dos tipos de PGPR, los PGPR intracelular (PGPR i) los cuales viven dentro de la planta o en nódulos y los PGPR extracelular (PGPR e), los cuales viven en la rizósfera de las plantas (Verma et al, 2010).

CAPITULO 3: MATERIALES Y METODOLOGÍA

3.1 MATERIALES

3.1.1 Material biológico

- Cepas de *Azotobacter* adquiridas del Laboratorio de Bioprocesos Industriales de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).
- Cepas de *Rhizobium* adquiridas del Laboratorio Ecología Microbiana y Biotecnología “Marino Tabusso” (LMT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Las cepas ya habían sido aisladas y caracterizadas.
- Semillas del cultivo de frijol castilla (*Vigna Unguiculata*) variedad “castilla”
- Semillas de cultivo de tarwi (*Lupinus mutabilis*)

3.1.2 Medios de cultivo

- Medio Winogradsky para el cultivo de *Azotobacter*
- Medio LMA(Levadura Manitol Agar) para el cultivo de *Rhizobium*
- Medio PDA(Papa Dextrosa Agar)
- Caldo LMA
- Caldo “C”(Nueva formulación)

3.1.3 Soluciones y reactivos

- Buffer pH 7 y 4
- Solución salina al 0.80%
- Nitrato de potasio 0.1%
- Solución NaOH 1N y HCl 1N
- Alcohol al 70%
- Hipoclorito de sodio (2%)
- Safranina

- Cristal violeta
- Lugol o alcohol yodado
- Alcohol-cetona
- Aceite de inmersión

3.1.4 Materiales y equipos de laboratorio

- Autoclave
- Incubadora de 28 °C
- Balanza Analítica y de platillo
- Estufa u Horno 60-180° C
- Microscopio óptico
- Microondas
- Baño María
- Refrigeradoras
- Tubos de Prueba 25 x 250 mm
- Placas Petri 15 x 100 mm
- Pinzas
- Pipetas de 5 y 10 ml
- Beakers de 125, 250 y 600 ml
- Probetas graduadas de 100 ml y 1000ml
- Baguetas
- Espátulas de Driglasky
- Bandejas de plástico 30 x 20 cm
- Frascos de Vidrio con tapa estériles
- Lámina porta y cubre objeto

3.1.5. Materiales para el ensayo en bandejas

- Bandejas de plástico 30x20 cm
- Bolsas de ziploc 100 unidades
- Guantes quirúrgicos 1 caja
- Papel toalla estéril
- Regla de 30 cm
- Agua estéril
- Pipeta de 10 mL
- Propipeta
- Alcohol 70°C
- Hipoclorito de sodio
- Jeringa de 5cc

3.1.6. Materiales para la elaboración del invernadero

- Madera prensada
- Plástico
- Listones de madera
- Termómetro
- Tornillos
- Bisagra
- Tierra agrícola de chacra
- Macetas de plástico
- Vernier
- Regla de 30 cm
- Huincha
- Bolsa de plástico de 20x 15 cm
- Herramientas de carpintería

3.2 MÉTODOLÓGÍA

3.2.1 Lugar de toma de muestras y toma de muestras de suelo y plántulas

El lugar de la toma de las muestras se realizó en los campos agrícolas de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM). Se obtuvo una muestra de 200g a 300g de suelo agrícola, del campo de cultivo del laboratorio de suelos de la Facultad de Agronomía. El campo se ubica en las siguientes coordenadas geográficas: latitud: 12° 05' 06'' S, longitud 76° 57' 09'' S.O, una altura de 236 m.s.n.m. En el caso de muestras de suelo para la obtención de cepas de *Azotobacter*, fueron llevadas en bolsas ziploc hacia el laboratorio de Bioprocesos industriales de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. El suelo se encontraba húmedo y cultivado con plantas de *Solanum tuberosum* var "Huayro". El lugar exacto de muestreo se aprecia en la figura 7.



Figura 7. Lugar del muestreo del suelo del campo de cultivo de papa (*Solanum tuberosum* var. *huayro*) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM)

Por otra parte, se obtuvo muestras de plántulas de frijol en la cual se observaron nódulos. Se eligió las plántulas más vistosas y de mejor características de follaje para la obtención de la muestra. Se observó que el suelo se encontraba húmedo, las plantas si bien poseían tamaños pequeños, estaban vigorosas, turgentes y sin signos de enfermedad.



Figura 8. Lugar del muestreo del suelo del campo de cultivo de frijol de la Universidad Nacional Agraria La Molina

3.2.2 Aislamiento de *Rhizobium*

Las cepas se aislaron según la metodología propuesta en el manual del CIAT (1987). Los nódulos se colocaron en sobres de papel de filtro para hidratarse en agua destilada estéril durante 30 minutos. Luego se desinfectaron en alcohol 70% por 1 minuto en un frasco estéril, luego se transfirió los sobres a un frasco con hipoclorito de sodio 3% por espacio de 3min. Se enjuagaron con agua destilada estéril hasta cinco veces. Se sacaron los nódulos de sus sobres, con una pinza estéril y se colocaron en placas Petri estériles, agregándole una gota de agua destilada estéril por nódulo. Luego con la ayuda de una bageta, se aplastaron los nódulos y el macerado se sembró en placas Petri con LMA (Agar-levadura-Manitol) con rojo Congo por estrías. Las placas fueron llevadas a la incubadora a 28 °C de 2 a 4 días.



Figura 9. Aislamiento de *Rhizobium* a partir del nódulo de frijol, técnica de aislamiento propuesta por el Manual CIAT (1987)

3.2.3 Aislamiento de *Azotobacter*

Las cepas de *Azotobacter* se obtuvieron a través de diluciones seriadas. Se siguió el procedimiento de aislamiento publicado en el Manual de Bacteriología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, publicación realizada por León y col (2017). El procedimiento consistió en pesar 10g de suelo agrícola y se colocó en 90mL de la solución salina al 0.80%, matraz de 200 mL de capacidad, ésta fue la dilución -1. Luego se homogenizó la mezcla de forma manual para luego realizar la siguiente dilución. A partir del matraz se agregó 1mL del mismo y se dispensó en el siguiente tubo, que contenía 9mL de solución salina. Esta fue la dilución -2. De la misma manera se procedió con la dilución -3 y -4. Antes de finalizar se agregó 0.1ml de cada tubo en la superficie del agar Winogradsky y expandir la alícuota con la ayuda del asa Drigalsky, hacer giros a la derecha y a la izquierda de la placa Petri. Finalmente se llevó a la incubadora todas las placas a 28°C y se evaluaron las placas por 4 días. (Figura 10).

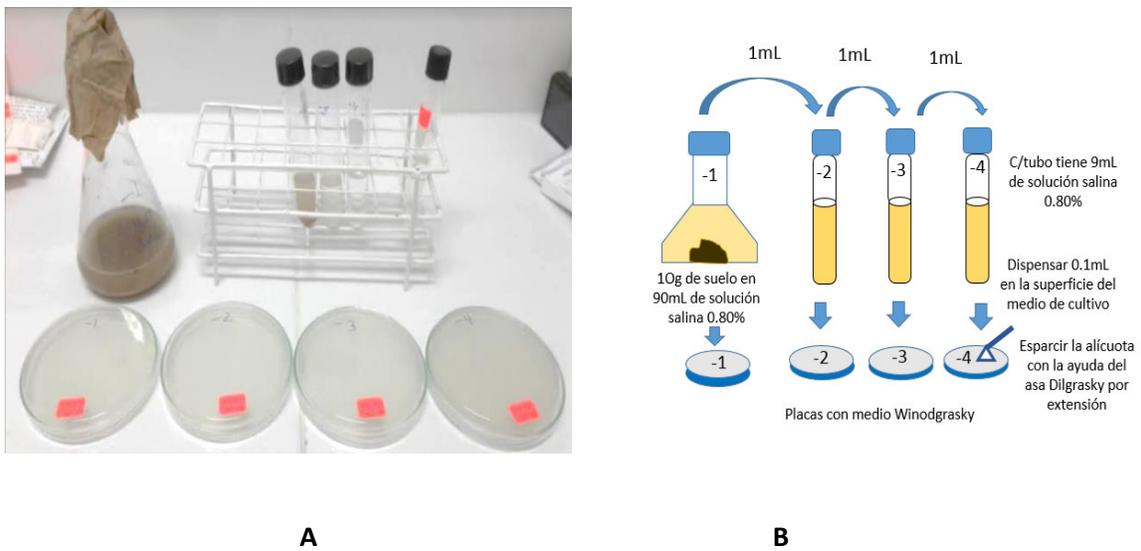


Figura 10. Diluciones seriadas empleadas para el aislamiento de las cepas de *Azotobacter* sp (a) Materiales utilizados en el aislamiento (b) Técnica de las diluciones seriadas

3.2.4 Tinción de Gram

Se realizó de acuerdo a la metodología utilizada por la Universidad San Ignacio de Loyola(2017) con la modificación de los tiempos propuestas en el Manual de Bacteriología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos León y col (2017) y las tinciones bacterianas realizadas en el Laboratorio de Bioprocesos industriales.



Figura 11. Procedimiento a seguir para realizar la Tinción de Gram

3.2.5 Tinción de flagelos



Figura 12. Procedimiento a seguir para realizar la Tinción de flagelos

En el procedimiento de tinción de flagelos, se debe considerar que el reactivo se encuentre en refrigeración para lo cual es necesario combinar las soluciones A, B y C previamente. Luego de la preparación de mismo, muy conveniente es el colocar una pequeña cantidad de la muestra para luego realizar el proceso de tinción. Este método tiene la ventaja de observar con mayor nitidez la muestra objetivo. En los bordes de las células teñidas, con un aumento de 100X, se debe apreciar los flagelos de las bacterias a analizar.

3.2.6 Preparación de los inoculantes

Las cepas aisladas previamente y la cepa empleada como control E10 (*Rhizobium*) fueron empleados para la elaboración de los inoculantes. El medio de cultivo utilizado fue el medio "C (Caldo de nueva formulación), el cual fue preparado y esterilizado previamente en autoclave a 121°C por 30 min. Luego de dispensar el medio en los frascos en condiciones de esterilidad, se inoculó cada frasco de acuerdo a la información de la Cuadro 1.

Luego de llevaron a incubar todos los frascos a 28°C por espacio de 48h en agitación. La formulación del medio c, se aprecia en la sección anexos.

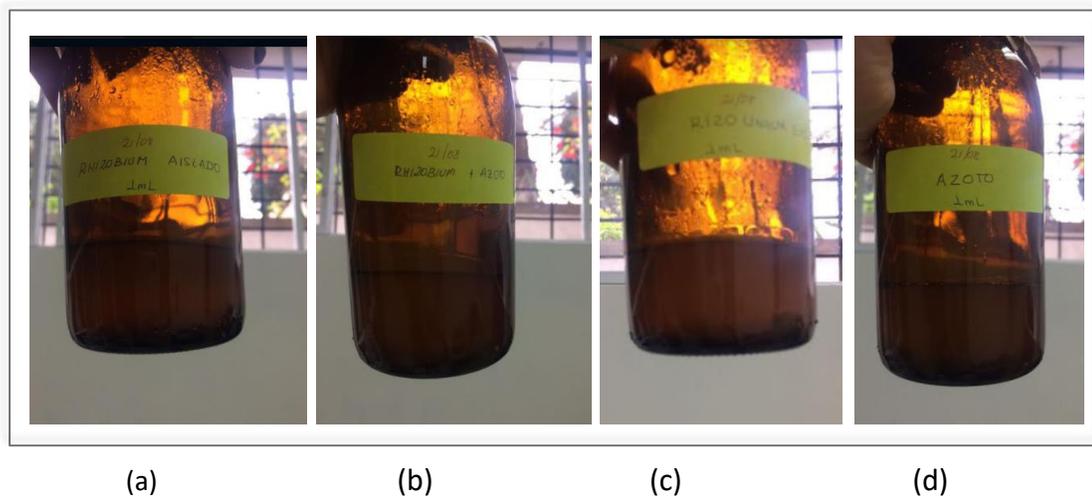


Figura 13. Preparación de los inoculantes(a) Cepa de *Rhizobium* aisl-1 (b) *Rhizobium* más *Azotobacter* (c) Rhizo E10 UNALM (d) *Azotobacter*

Cuadro 1. Cantidad de inóculo agregado a los frascos

Inoculantes	Cantidad inoculada
<i>Rhizobium</i> aislado	1mL
<i>Rhizobium</i> + <i>Azotobacter</i>	0.5mL Rizo y 0.5 mL Azoto
Rizo E10 UNALM	1mL
<i>Azotobacter</i>	1mL

3.2.7 Experimento en bandejas con semillas de caupí

El experimento se realizó en base a la Metodología modificada propuesta por el Manual de Zúñiga (2013) para la aplicación de bacterias promotoras de crecimiento en semillas.

a) Selección de las semillas

Se seleccionaron semillas uniformes de caupí, se contabilizaron 50 semillas para cada tratamiento, estas semillas fueron colocadas en bolsas pequeñas rotuladas para cada tratamiento.

b) Desinfección de las semillas

Las semillas fueron colocadas en frascos estériles, rotulados con los tratamientos. En los mismos recipientes se agregó lejía 2% por espacio de tres minutos con la finalidad de eliminar la mayor cantidad de carga microbiana presente en las semillas. Luego de transcurrido ese tiempo se procedió a lavar las semillas de 3 a 5 veces con agua estéril.

c) Imbibición de las semillas

Luego de la desinfección se procedió a realizar la imbibición de las semillas en los respectivos frascos con el medio formulado con los diversos tratamientos señalados en el cuadro y se incluyó un tratamiento con agua y uno con nitrato de potasio al 0.1%. El tiempo de imbibición fue de 40 min.

d) Siembra de las semillas en las bandejas

Las semillas se sembraron en las bandejas con la ayuda de pinzas estériles. Se colocaron en forma ordenada 10 semillas de largo por 5 semillas de ancho. La distancia inicial de las semillas fue de 3 cm de largo entre semillas y dos centímetros entre una fila de semillas y la siguiente. Finalmente, se realizó el seguimiento de las semillas a las 48h y 72h después.

3.2.8 Experimento en invernadero con semillas de caupí

Etapa 1. Adquisición del suelo agrícola

Se utilizó suelo agrícola, el cual fue pesado y se colocó 1,100Kg de suelo para cada una de las macetas de caupí. El pH del suelo fue de 5.5.

Etapa 2. Elaboración del invernadero

El invernadero fue elaborado con trozos de madera comprimida y listones de madera para generar un soporte adecuado para las macetas. Además se le colocó una malla protectora de insectos en la parte posterior del invernadero.

Etapa 3. Pre-germinación de las semillas

Se realizó la pre-germinación de las semillas en bandejas de plástico, se colocaron semillas de caupí en bandejas. Se colocaron aproximadamente 20 semillas por bandeja sobre la superficie de papel toalla humedecido con agua. Luego de un periodo de 48h se eligieron las semillas con mayor crecimiento radicular, aproximadamente de 3 mm.

Etapa 4. Siembra de las semillas en las macetas

Las semillas pre-germinadas fueron colocadas en suelo franco arenoso, el cual estaba dispuesto en macetas, la siembra se realizó durante la mañana. La siembra se realizó colocando tres semillas por maceta, con la ayuda de una pinza desinfectada. Luego se procedió a rotular cada una de las macetas con el tratamiento correspondiente.

Etapa 5. Inoculación e colocación de macetas en el invernadero

En el laboratorio de Bioprocesos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, los inoculantes contenidos en frascos ámbar, con 100mL fueron dispensados a frascos de centrifuga estériles, 30mL en cada frasco. Estos últimos frascos fueron transportados al invernadero el día de la inoculación. Se inoculó 1mL en cada planta de frijol caupí. La inoculación se realizó con la ayuda de pipetas estériles. Además, se preparó una solución de nitrato de potasio KNO_3 (0.1%) el cual fue utilizado como control y fuente nitrogenada para las plántulas. De la misma manera se empleó solo un tratamiento con agua. Todas las plántulas fueron regadas cada cinco días.

Etapa 6. Evaluación final de las plántulas en invernadero

Se evaluó la longitud de la parte aérea a los 5, 10, 15, 20, 25 y 30 días. Las evaluaciones de la longitud de la parte aérea se realizaron con la ayuda de una huincha. Se procedió de forma similar en las siguientes evaluaciones con la longitud de la parte aérea. Además, se registró la temperatura del ambiente en el invernadero en cada evaluación realizada.

Luego de 32 días de crecimiento en el invernadero, se evaluaron los parámetros del Cuadro 2. Así mismo, se evaluó las dimensiones de las hojas midiendo las distancias de largo y ancho de las hojas. El tallo fue evaluado con la ayuda del vernier(un material de metal) que fue de apoyo para hallar el grosor del tallo. Luego de ello fueron llevados al horno a 70°C por 48h, se determinó el peso seco, con la ayuda de una balanza analítica.

Cuadro 2. Parámetros a evaluar en ensayo con plantas de caupí

	Unidad
Longitud de parte aérea	cm
Longitud de raíz	cm
Peso fresco de parte aérea	g
Peso seco de raíz	g
Números	u
Grosor del tallo	mm

3.2.9 Experimento en bandejas con semillas de tarwi (*Lupinus mutabilis*)

Las semillas fueron desinfectadas siguiendo los mismos procedimientos utilizados para las semillas de caupí. Se colocaron durante 3 min las semillas en una solución de lejía 2%. Luego de lavaron con agua destilada por cuatro veces con la finalidad de eliminar todos los restos de lejía. Finalmente, se colocaron cada una de las semillas en un espacio de diez semillas por cinco.

3.2.10 Experimento en invernadero con semillas de tarwi

La metodología a seguir fue similar a la metodología realizada para el cultivo de caupí. Sin embargo, se tuvo en consideración algunas modificaciones. Por ejemplo, se empleó 35 min de imbibición de las semillas. El suelo ideal para el cultivo es franco arenoso. El cual permite un mejor desarrollo de las plántulas. La temperatura para el secado en la estufa fue de 65°C, debido a que sus hojas son más susceptibles al secado. El suelo tenía un pH de 6.5 y la temperatura de crecimiento oscilaba entre 20-25°C.

3.2.11. Diseño Experimental

Se utilizó un diseño en bloques completos al azar con seis tratamientos y seis repeticiones por tratamiento, en los ensayos de germinación el laboratorio, según lo siguiente:

- **Rizo aisl-1**, inoculante de *Rhizobium* sp aislado
- **Rizo E10**, inoculante comercial de *Rhizobium* sp
- **Azotobacter**, inoculante bacteriano aislado
- **Rizo aisl-1 + Azoto**, consorcio bacteriano de *Rhizobium* y *Azotobacter*
- **Agua**, grupo control
- **N+**, solución de nitrato de amonio 0.1%

En los ensayos en invernadero, se asignaron los mismos grupos y se incluyó un grupo adicional constituido por el tratamiento conformado por el consorcio conformado por Rizo E10 + *Azoto*.

CAPITULO 4. RESULTADOS

4.1. Evaluación de las plántulas muestreadas

Los resultados del muestreo de plántulas se aprecian en la siguiente Cuadro 1. La apariencia de los nódulos en las plántulas de frijol se aprecia en la Figura 15. Esta experiencia fue realizada con la finalidad de obtener cepas de *Rhizobium* a partir de los nódulos.

Cuadro 1. Evaluación de las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

	<i>Longitud de raíz</i>	<i>Peso fresco de hojas (g)</i>	<i>Peso fresco de raíz(g)</i>	<i>Número de trifolios</i>	<i>Peso seco de raíz</i>	<i>Peso seco de hojas</i>	<i>Nódulos</i>	<i>Diámetro del nódulo</i>
<i>Planta 1</i>	11 cm	16.55	1.68	5	0.5		4	1mm
<i>Planta 2</i>	8 cm	6	0.68	4	0.21		1 2	3 mm 2 mm
<i>Planta 3</i>	8 cm	11.83	1	4	0.26		0	0



Figura 14. Campos de experimentales de la Facultad de Agronomía de la Universidad Agraria La Molina (UNALM)

4.2. Caracterización de las cepas de *Rhizobium*

Cepas Rhizobium aisladas de nódulos

Luego de realizar el aislamiento, se evaluaron las características macroscópicas de las cepas en su medio de cultivo Levadura- Manitol-Agar (LMA). Se evaluaron las siguientes características típicas de las colonias: textura, elevación, color, consistencia. Las cepas eran rosadas, cremosas y de consistencia ligosa, características típicas de las bacterias *Rhizobium*. La ligosidad se evaluó en condiciones de esterilidad al tocar con el asa de Kille una colonia representativa de la placa. Todas las características morfológicas de las colonias se resumen en la Cuadro 2. Para los siguientes ensayos se seleccionó la cepa con el código 21GR, la cual provenía de un nódulo de 4 mm de diámetro. Esta cepa fue luego catalogada como Rizo aisl-1.



Figura 15. Observación macroscópica de las colonias de *Rhizobium* sp 21GR en el Medio de cultivo LMA (Levadura-Manitol-Agar) a la 48h

Cuadro 2. Características de las colonias de rizobios aislados en levadura-manitol-agar (LMA) a las 24h y 48h

COD	Crecimiento	Características de las colonias a las 24 h						
		Diámetro	Apariencia	Color	Forma	Borde	Textura	Elevación
1A1	Escaso	2 mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	convexa
1A2	Escaso	1.1 mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	convexa
1A3	Escaso	0.1 mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	Convexa
1B1	Escaso	0.1 mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	convexa
21GR	Regular	2 mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	Convexa
21GR(r)	Escaso	<0.1 mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	Convexa
2 1ch	No hubo crecimiento	-	-	.	-	-	-	-
2 (ad)	No hubo crecimiento	-	-	-	-	-	-	-
COD	Crecimiento	Crecimiento de las colonias a las 48h						
1A1	Regular	4 mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	convexa
1A2	Regular	2mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	convexa
1A3	Regular	2.5 mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	convexa
1A4	Regular	3mm	opaca	rosada	Redonda	entera	cremosa	convexa
1B1	Regular	3 mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	convexa
21GR	Regular	2 mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	convexa
21GR(r)	Escaso	Muy pequeñas <1 mm	opaca	rosada	redonda	entero	cremosa	convexa
2 1ch	No hubo crecimiento	-	-	.	-	-	-	-
2 (ad)	No hubo crecimiento	-	-	-	-	-	-	-

Cepas *Rhizobium* E10

En el presente estudio se evaluaron las características macroscópicas de la cepa E10, a través de la observación de las cualidades de las colonias en el medio de cultivo Levadura- Manitol-Agar (LMA). Las características resaltantes de la cepa fue su color rosado característico, colonias redondas con abundante mucosidad (Fig. 3). Además de desarrollarse a las 48°C en Agar Levadura-Manitol Agar (Cuadro 3). En la tesis de Gonzales (2013), se describe las características de la cepa E10, se menciona que la cepa tiene un efecto positivo en las plantas de frijol var ´canario centenario´ en condiciones de laboratorio. Además, se evaluó las cualidades como promotor de crecimiento vegetal de la cepa E10 y otras cepas de *Rhizobium*, también se demostró que es una cepa que produce AIA y es cepa solubilizadora de fosfato con halos de 2 mm. Esta cepa fue conservada en refrigeración luego de la siembra en este medio, para lo cual se sembró en agar LMA inclinado por duplicado para realizar las pruebas siguientes.



Figura 16. Colonias de *Rhizobium* sp (E10) en LMA (Levadura-Manitol-Agar) luego de 48h de crecimiento

4.3 Caracterización de las cepas de *Azotobacter sp*

Luego de la incubación a 24h a 28°C, se evaluaron las colonias desarrolladas en el medio Winogradsky. En las placas de la dilución -4, se apreciaron más colonias diferenciadas y aisladas. En la dilución -1, se observaron colonias más conglomeradas, en la dilución -2 y -3 se apreciaron colonias más separadas. Sin embargo la dilución -4 se apreciaron más colonias separadas. En la Fig 18 se aprecia las características de las colonias aisladas en el medio Winogradsky, segunda siembra. La siembra se realizó por la técnica de las estrías, se tomó una asada de las placas iniciales y se sembró en la superficie del agar. Las colonias típicas de *Azotobacter* eran traslúcidas y poco mucosas en el medio Winogradsky, no presentan ligosidad y aparecían al 3er día en la placa. La temperatura de incubación de 28-30°C y el tiempo de incubación de mayor a 3 días son dos condiciones que se consideró para su crecimiento. Los resultados de la caracterización morfológica se resumen en la Cuadro 3.



Figura 17. Colonias características de *Azotobacter* en el medio de cultivo Winogradsky

Cuadro 3. Características de las colonias aisladas en medio Winogradsky a las 24 h, 48 h y 72h

Dilución		Características de las colonias a las 24 h						
COD		Diámetro	Apariencia	Color	Forma	Borde	Textura	Elevación
WA1	-1	0.5mm	Opaca	Blanca	redonda	entero	Cremosa	convexa
WA2	-1	0.1mm	Opaca	Blanca	redonda	entero	Cremosa	convexa
WA1	-2	0.1mm	Opaca	Blanca	redonda	entero	Cremosa	Convexa
WA2	-2	0.5mm	Opaca	Blanca	redonda	entero	Cremosa	convexa
WA3	-3	0.2mm	Opaca	Blanca	redonda	entero	Cremosa	Convexa
WA3	-3	0.5mm	opaca	Blanca	redonda	entero	Cremosa	Convexa
COD	Crecimiento de las colonias a las 48h							
WA1	-1	0.2mm	opaca	blanca	redonda	entero	cremosa	convexa
WA21	-1	0.1mm	opaca	blanca	redonda	entero	cremosa	convexa
WA12	-2	1mm	opaca	blanca	redonda	entero	cremosa	convexa
WA22	-2	2mm	opaca	blanca	Redonda	entera	cremosa	convexa
WA31A	-2	0.1mm	opaca	blanca	redonda	entero	cremosa	convexa
WA2A2	-2	0.2mm	opaca	blanca	redonda	entero	cremosa	convexa
WA3A2	-2	2mm	opaca	blanca	redonda	entero	cremosa	convexa
WA4D	-2	2mm	traslucida	blanca	redonda	entera	acuosa	plana
WA1	-3	2mm	traslucida	blanca	redonda	entero	cremosa	convexa
WA2	-3	2mm	traslucida	atornazolada	redonda	entero	acuosa	convexa
WA3	-3	2.5mm	traslucida	atornazolada	redonda	entero	acuosa	plana
WA4	-3	2mm	opaca	blanca	Redonda	entero	cremosa	convexa
WA4	-3	0.1mm	opaca	blanca	redonda	entera	cremosa	convexa
WA1	-4	3mm	opaca	blanca	redonda	entero	cremosa	convexa
WA2	-4	2mm	opaca	blanca	redonda	entero	cremosa	convexa
WA3	-4	0.1mm	opaca	blanca	redonda	entero	cremosa	plana
WA4	-4	0.3mm	opaca	atornazolada	redonda	entera	cremosa	plana
Crecimiento de las colonias a las 72h**								
Azoto2(a)	-4	1.5mm	traslucida	transparente	entero	cremosa	convexa	entero
Azoto2(b)	-4	3mm	traslucida	transparente	entero	cremosa	convexa	entero
Azoto1	-3	2.5mm	traslucida	transparente	entero	cremosa	convexa	entero

**Estas colonias aparecieron a los tres días

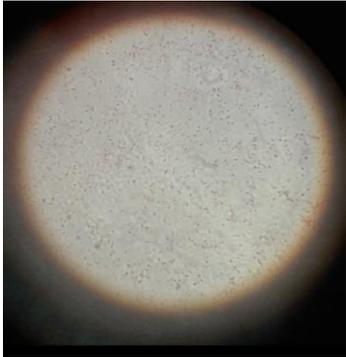
4. 4 Observación de las células por medio de la Tinción de GRAM

Al finalizar el procedimiento de Tinción de Gram, se realizaron observaciones en el microscopio compuesto. Las células de *Rhizobium*, cepas aisladas y comercial, se caracterizaron por ser bacilos cortos Gram negativos. Los resultados de la tinción se observan en la Cuadro 5 y 6.

Cuadro 5. Tinción de Gram de la cepa: RIZO AISL1.

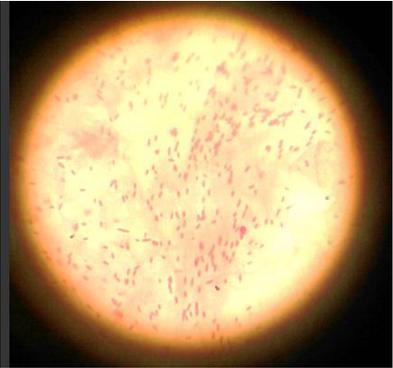
	<i>Características</i>	<i>Observación microscópica</i>
<i>Cepa aislada</i>	CODIGO RIZO AISL1.	
<i>Tiempo de incubación</i>	48h	
<i>Color</i>	Rojo	
<i>Morfología</i>	cocos y bacilos cortos	
<i>Cantidad</i>	abundantes	
<i>Aumento</i>	100X	
<i>Tipo de bacteria</i>	Gram negativa	

Cuadro 6. Tinción de Gram de la cepa: Rhizobium E10

	<i>Características</i>	<i>Observación microscópica</i>
<i>Cepa aislada</i>	CODIGO RIZO E10	
<i>Tiempo de incubación</i>	48h	
<i>Color</i>	Rojo	
<i>Morfología</i>	Bacilos cortos	
<i>Cantidad</i>	abundantes	
<i>Aumento</i>	100X	
<i>Tipo de bacteria</i>	Gram negativa	

Las células de *Azotobacter*, provenientes de las colonias traslúcidas eran bacilos largos Gram negativos y no se apreciaron contaminantes. Por este motivo, las cepas fueron conservadas en agar Winogradsky inclinado.

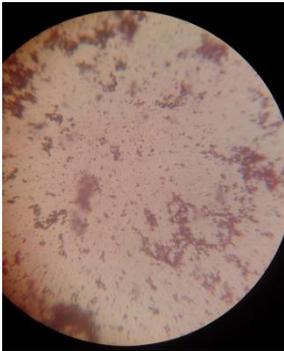
Cuadro 7. Tinción de Gram de la cepa: *Azotobacter*

	Características	Observación microscópica
Cepa aislada	<i>Azotobacter</i>	
Tiempo de incubación	48h	
Color	Rojo	
Morfología	Bacilos largos	
Cantidad	abundantes	
Aumento	100X	
Tipo de bacteria	Gram negativa	

4. 5 Resultado de la tinción de flagelos con el reactivo Leifson

Se colocó una pequeña muestra del cultivo de *Azotobacter* líquido en un portaobjeto. Luego de ello se colocó un cubreobjeto sobre la superficie de la muestra. Se agregó el colorante Leifson alrededor del cubreobjeto con la finalidad de que el colorante ingrese al interior de la muestra por capilaridad. Por este motivo se dejó reposar por espacio de 10 min el colorante. Luego de concluido ese tiempo se procedió la observación microscópica, se comenzó con el objetivo que tenía un aumento de 4X, luego el de 10X, 40X y 100X. En este último aumento se logró apreciar los detalles de las células con más definición y nitidez.

Cuadro 8. Tinción con el Reactivo Leifson cepa: *Azotobacter*

	Características	Observación microscópica
Cepa aislada	<i>Azotobacter</i>	
Tiempo de incubación	48h	
Color	Morado	
Morfología	Bacilos largos	
Cantidad	abundantes	
Aumento	100X	
Tipo de bacteria	Gram negativa	

4.6 Evaluación de la germinación de las semillas de caupí

La germinación de las semillas se evaluó a las 48h y 72h después de colocarlas en las bandejas. La temperatura del ambiente fluctuaba entre 20 a 21 °C durante la noche y 18-19°C durante el día. Se realizaron riegos con agua destilada cada 3 días, en condiciones de esterilidad. Al finalizar el experimento se evaluó la materia fresca y seca de cada tratamiento evaluado. El resultado más importante fueron las semillas tratadas con la cepa *Azotobacter*, el cual obtuvo un 80% de germinación a los 2 días se sembrarlo superior al agua, con un 66% de germinación. Todo se contrastó con los resultados estadísticos y gráficas comparativas. El tratamiento que también tuvo un buen porcentaje fue el de la interacción Rizo E10, 78% de germinación, mayor al agua (control) 66%. (Cuadro 9 y Figura 18). Así mismo, se realizó un experimento complementario en las bandejas. El cual consistió en cambiar las condiciones de imbibición con la finalidad de determinar si esta variable pudo influenciar en los resultados obtenidos. En la evaluación se emplearon las cepas de *Azotobacter* y de la coinoculación *Azotobacter-Rhizobium* con 30 min y 40 min de imbibición. Los resultados se aprecian en la siguiente Cuadro 10 y figura 19.

Cuadro 9. Experimento en bandejas con semillas de frijol caupí luego a las 48h de crecimiento en el Laboratorio

Tratamientos	Número de semillas germinadas	Porcentaje de germinación	Velocidad de germinación (N° semillas germinadas/ días)
<i>RIZO AIS-1</i>	38	76%	19 semillas/d
<i>RIZO E10</i>	39	78%	19 semillas/d
<i>Azotobacter</i>	40	80%	20 semillas/d
<i>Rizo ais-1+ Azoto</i>	34	68%	17 semillas/d
<i>AGUA</i>	33	66%	16 semillas/d
<i>N+</i>	43	86%	21 semillas/d

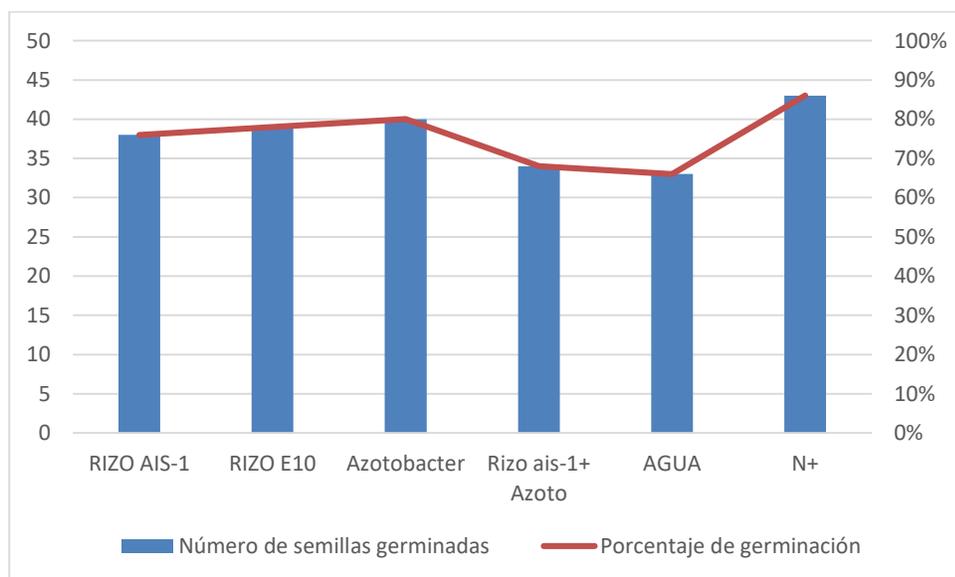


Figura 18. Gráfico comparativo del efecto de las cepas en la germinación de caupí luego a las 48h de crecimiento

Cuadro 10. Experimento en bandejas con semillas de frijol caupí, experimento con tiempos de imbibición diferentes a las 48h

Tratamientos	Número de semillas germinadas	Porcentaje de germinación	Velocidad de germinación (N° de semillas /día)
<i>Azotobacter 40'</i>	38	76%	19
<i>Azotobacter 30'</i>	40	80%	20
<i>Azoto+ Rizo (40')</i>	30	60%	15
<i>Azoto+ Rizo (30')</i>	35	70%	17
AGUA	33	66%	16
N+	29	58%	14

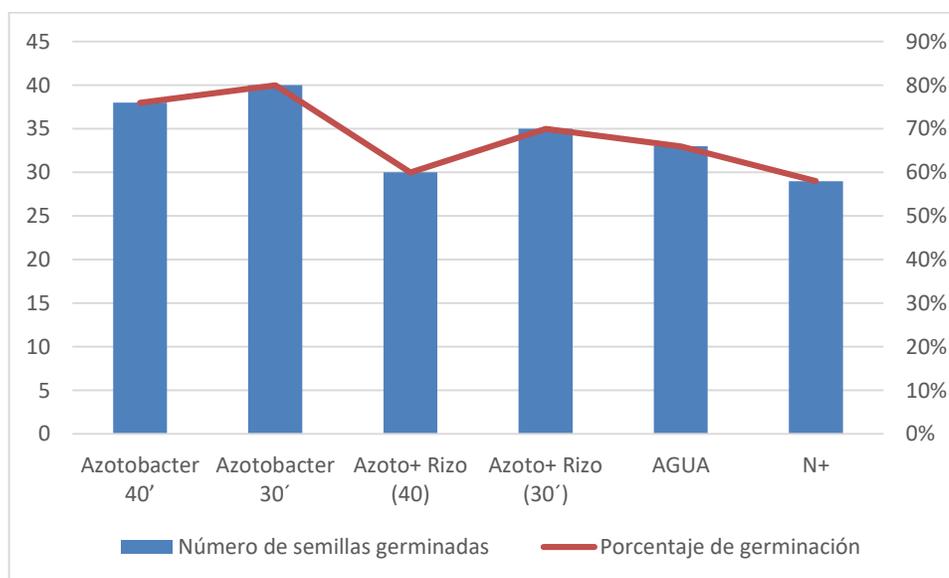


Figura 19. Gráfico comparativo del efecto de las cepas en la germinación de caupí luego a las 48h de crecimiento con tiempos diferentes

Cuadro 11. Resultados de la evaluación de las semillas de frijol caupí, porcentaje de germinación a las 48h y la biomasa fresca y seca a los 18 días de evaluación

Tratamientos	Número de semillas germinadas	Porcentaje de germinación 48h	Biomasa fresca(g) 18 días	Biomasa seca(g) 18 días
<i>Rizo ais-1</i>	38	76%	42	5.54
<i>Rizo E10</i>	39	78%	46	6.48
<i>Azotobacter</i>	40	80%	36	6.105
<i>Rizo ais-1+ Azoto</i>	34	68%	31	4.96
<i>AGUA</i>	33	66%	37	6.26
<i>N+</i>	43	86%	45	6.90

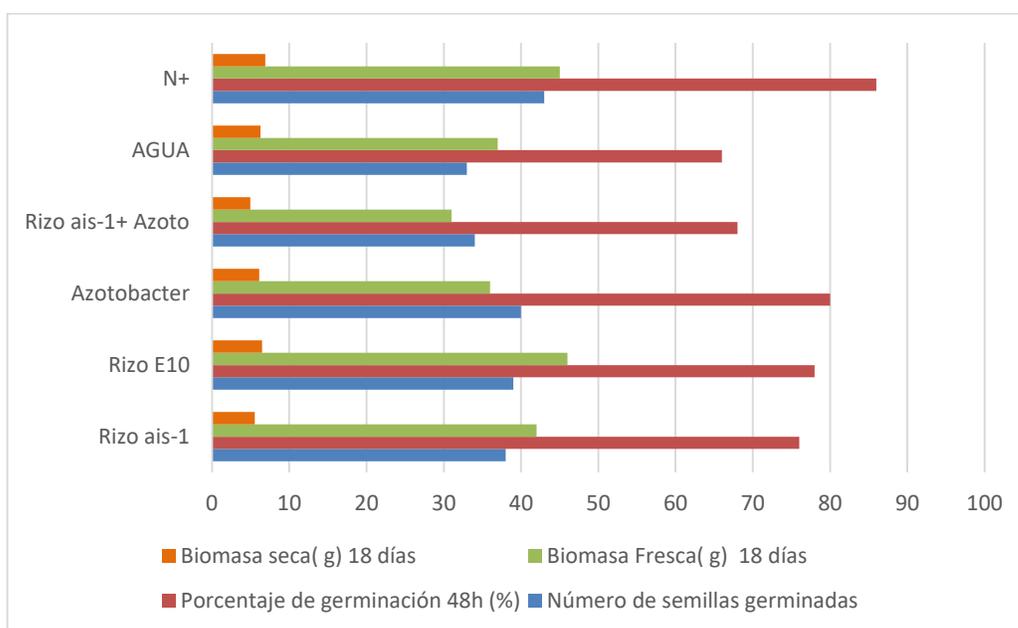


Figura 20. Gráfico comparativo de la biomasa fresca y seca, número de semillas germinadas y el porcentaje de germinación de frijol caupí

Cuadro 12. Resultados del porcentaje de germinación y la biomasa fresca y seca de frijol caupí a los 18 días de evaluación

	Número de semillas germinadas	Porcentaje de germinación 48h	Biomasa Fresca(g) 18 días	Biomasa seca(g) 18 días
<i>Azotobacter 40'</i>	38	76%	37.31	6.363
<i>Azotobacter 30'</i>	40	80%	41.38	6.223
<i>Azoto+ Rizo (40')</i>	30	60%	38.39	6.076
<i>Azoto+ Rizo (30')</i>	35	70%	48.81	4.836
AGUA	33	66%	21.24	4.103
N+	29	58%	42.79	4.813

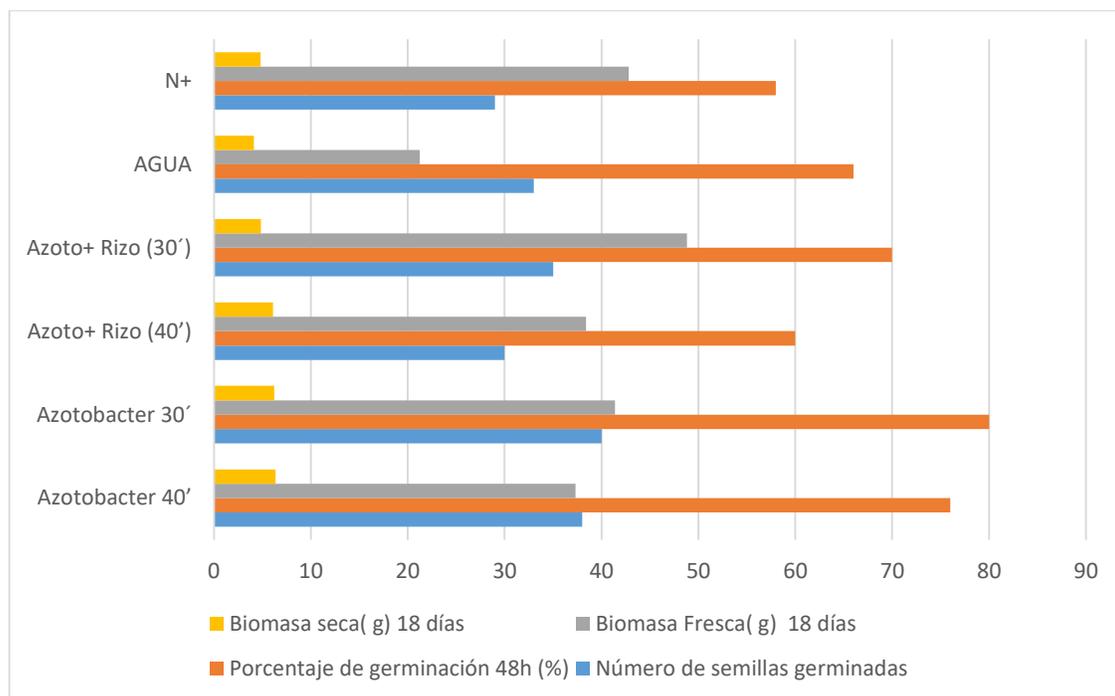


Figura 21. Gráfico comparativo de la biomasa fresca y seca, número de semillas germinadas y el porcentaje de germinación de frijol caupí a los 18 días de crecimiento

4.7. Evaluación de la presencia de hongos en bandejas

Se evaluó la presencia de hongos en las bandejas, en especial en las bandejas con el tratamiento agua, la evaluación microscópica consistió en agregar una pequeña muestra de micelio en un portaobjeto limpio y desinfectado previamente con alcohol. Se colocó en la muestra una gota de azul de lactofenol. Seguidamente se colocó un cubreobjetos y se limpió el exceso de colorante. Finalmente se visualizó la presencia de hongos, su morfología y se logró la identificación de los mismos. En el primer experimento con bandejas de frijol caupí, se observó la presencia del hongo *Alternaria* sp y macroconidias (Fig.22). Los hongos más frecuentes fueron hongos ambientales *Penicillium* sp, *Rizopus* sp en el segundo experimento con bandejas.

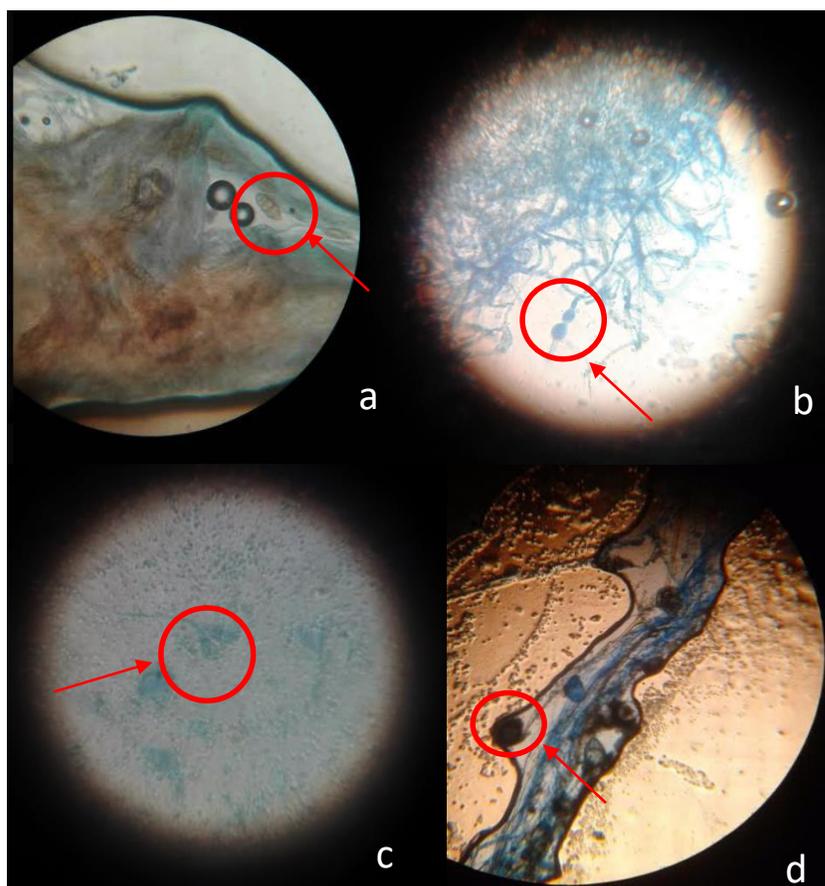


Figura 22. Visualización microscópica de hongos ambientales en bandejas
(a) conidias de *Alternaria* (b) microconidias de hongos filamentosos (c)
conidias de *Penicillium* (d) esporangios de *Rhizopus*

4.8 Resultados del experimento de caupí en invernadero

Las plántulas de caupí fueron evaluadas cada cinco días de instalado el experimento. Se realizaron evaluaciones a los 5, 10, 15, 20, 25 y 30 días, en la Cuadro 13, se registran todas las evaluaciones periódicas realizadas de la longitud de la parte aérea.

- a) Evaluación a los cinco y diez días.-** A los cinco días, las plantas se adaptaron al nuevo sustrato. La temperatura ambiental fue de 14°C, con elevada humedad. Sin embargo no se apreciaron signos de enfermedades fúngicas en ninguno de los tratamientos. Se apreció solo en dos macetas, en la maceta tratada solo con agua, se apreció la presencia de hongos en las semillas y también en la maceta a la cual se le aplicó N⁺ (KNO₃ 0.1%). Luego de diez días, las plántulas fueron evaluadas nuevamente. En ellas se apreció un color más uniforme. No se apreciaron signos de enfermedad fúngica o viral en las plántulas.
- b) Evaluación a los quince días.-** A los quince días de instalado el experimento apreciar en base a la observación que las plantas inoculadas con un solo inoculante, tuvieron una mejor follaje que las plantas a la cual se le aplicó el Nitrato de potasio KNO₃ (N⁺) y también con respecto al agua. No se apreciaron signos de enfermedad en las plantas inoculadas. Sin embargo, si se observó presencia de hongos en las plántulas que solo fueron tratadas con agua. En la figura 10, se aprecia la comparación de la cepa Rizo ais-1 con respecto al agua y al N⁺.
- c) Evaluación final de las plántulas**
- Se obtuvieron 111 plantas en total, de todos los siete tratamientos. Las plantas fueron colocadas en sobres de papel blanco, rotulados previamente. Seguidamente se enviaron las muestras a la Universidad San Ignacio de Loyola, lugar donde se pesaron y donde se realizó el secado de este grupo de plantas a 70°C luego de 48h en la estufa.

Se realizó el peso seco de la parte aérea (hojas y tallo) y peso seco de raíces. Todos los resultados de las evaluaciones de peso de las plantas se aprecian en Anexos (VIII), cuadro 3.



Figura 23. Experimento en macetas, aplicación de tres tratamientos (Rizo E10, N+ y Agua), de izquierda a derecha, luego de quince días en el invernadero.

d) Evaluación comparativa de los resultados

El primer resultado a comparar fue la longitud de la parte aérea a través del tiempo. Esta variable fue analizada con programa el Excel, el registro de los datos, las gráficas y fotos comparativas a través del tiempo se aprecian a continuación.

Cuadro 13. Longitud de la parte aérea de las plántulas de frijol caupí (*Vigna unguiculata*)

Tratamientos	Evaluación periódica de la longitud de la parte aérea (cm)					
	5 días	10 días	15 días	20 días	25 días	30 días
RIZO AIS-1	2.6	11.13	10.84	12.21	14.26	14.93
RIZO E10	1.43	7.47	10.05	11.56	12.31	13.51
AZOT	1.88	8.44	11.33	12.35	14.10	15.36
RIZO E10+AZOT	1.56	8.49	9.86	10.83	11.84	12.49
RIZO AISL-1.+ AZOTO	1.51	6.85	9.62	11.22	12.52	13.17
AGUA	1.77	8.10	9.93	11.45	12.33	13.02
N+	1.79	7.63	9.33	11.41	13.60	14.35



RIZO E10 +AZOTO RIZO E10 AZOTO RIZO AISL+ AZOTO RIZO AIS. N+ AGUA

Figura 24. Plántulas de frijol caupí luego de quince días en invernadero

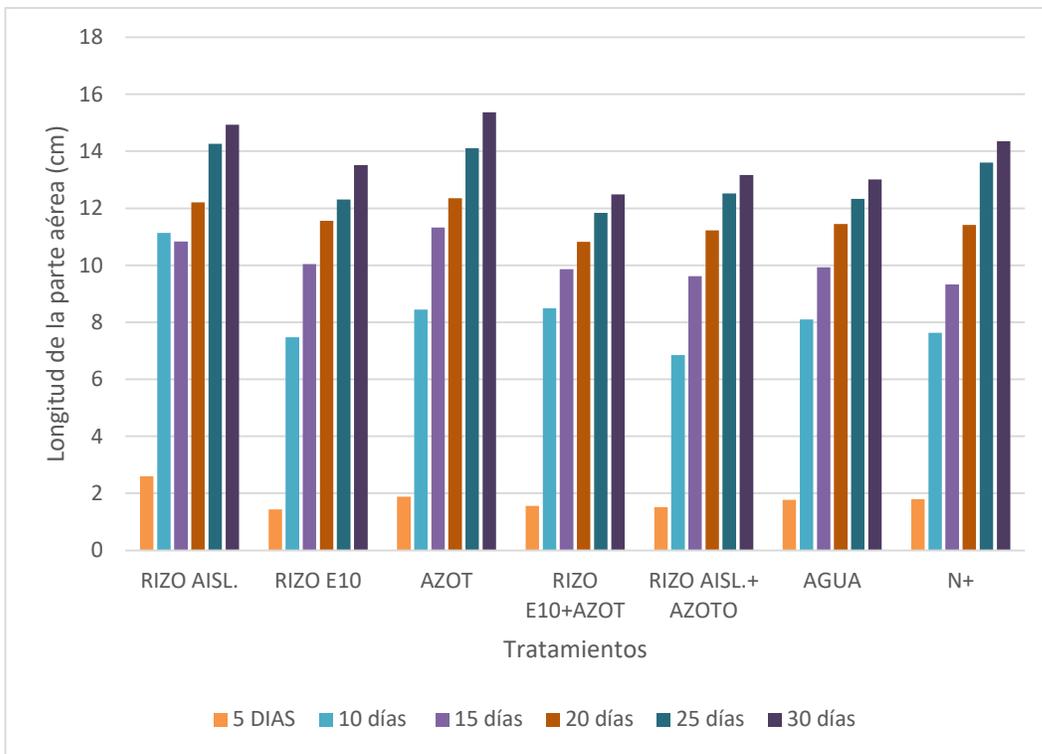


Figura 25. Gráfica comparativa de la longitud de la parte aérea con respecto al tiempo de las plántulas del cultivo de caupí.

En la gráfica 25, se aprecia la evolución del crecimiento de las plantas con el tratamiento Rizo Ais-1 entre los días 5 y 10, con un cambio de longitud de parte aérea de 8.53 cm más en el día 10 con respecto al día 5; este fue el mayor valor con respecto a los demás tratamientos. En relación a la cepa *Azotobacter*, entre los días 5 y 15, hubo un incremento de 9.42 cm más el día 15 con respecto a la día 5, también superior a los demás tratamientos.

Así mismo se observa que al finalizar el experimento, el mayor LPA promedio fue de las plántulas inoculadas con *Azotobacter*.

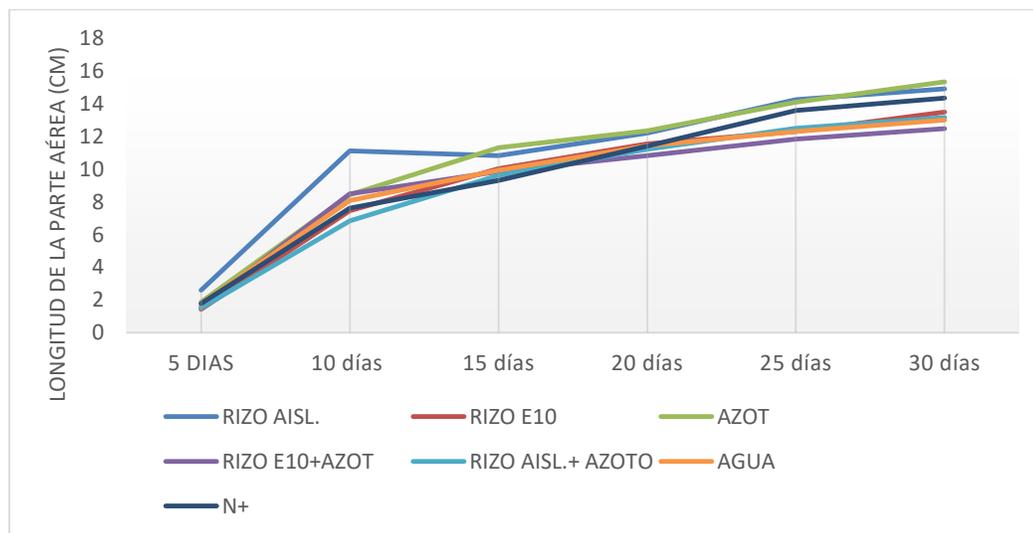


Figura 26. Gráfica comparativa de la evolución de la longitud de la parte aérea (LPA) con respecto al tiempo de las plántulas del cultivo de caupí.

e) Análisis estadístico en SPSS y en Statgrafics Centurion del ensayo en macetas de caupí a los 30 días de crecimiento

Al realizar la evaluación estadística en SPSS a los **treinta días**, resultados de la sección Anexo III, Sección 5, observamos la estadística descriptiva de todos los parámetros analizados en las plantas, el promedio obtenido de las seis repeticiones. Los parámetros fueron la longitud de la parte aérea y radicular, el peso fresco y seco de la parte aérea y de la raíz. Finalmente también se registra el grosor del tallo y la materia fresca final en promedio de cada tratamiento. Para el caso de la longitud de la parte aérea, el mayor valor promedio fue el tratamiento solo con *Azotobacter*, el cual fue de 15.922 cm, mayor al tratamiento solo con agua 14.1500 cm (control) y solo con N+ (nitrato de potasio), 14. 9361cm. La mayor longitud de raíz promedio fue de la tratamiento en consorcio (Rizo E10 + Azoto) con un valor de 7.2722 cm, seguido del tratamiento solo con Rizo aisl-1, con un valor de 7.1722cm estos valores fueron mayores al N+ cuyo valor promedio fue de 6.5528 cm. Sin embargo se asemejaban al tratamiento solo con agua con 7.0194cm de raíz.

Al realizar la evaluación del peso fresco de la parte aérea (PFPA). El tratamiento solo con *Azotobacter* tuvo el mayor PFPA, 1.9072g. Este último valor fue superior al del agua 1.5567g (control) y al tratamiento solo con nitrógeno o N+, 1.4783g. Al evaluar el peso fresco de la raíz (PFR), los mayores valores fueron el tratamiento consorcio bacteriano (Rizo E10+Azoto), consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto) y el tratamiento solo con Rizo E10, los valores fueron 0.3483g, 0.3211, y 0.3147g respectivamente. Todos estos valores fueron superiores al agua 0.2922g y en el N+ 0.2665g.

Al analizar el peso seco de la parte aérea (PSPA), el tratamiento solo con Rizo aisl-1 y solo con Rizo E10 tuvieron mayor PSPA, 0.18178g y 1.9533g respectivamente. La cepa Rizo E10 tuvo un mayor PSPA con respecto al agua con 0.16325g y al N+ 0.18604g. Así mismo, se evaluó el peso seco de la raíz (PSR) los tratamientos con mayor valor de PSR fue el consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto), seguido del consorcio (Rizo E10+Azoto), los cuales tuvieron un PSR promedio de 0.3494g y 0.2920g respectivamente. Ambos valor fueron superiores al PSR de los tratamientos con agua, 0.2219g y del tratamiento N+ 0.2668.

En la evaluación del grosor del tallo y la biomasa fresca, las plantas tratadas con solo Rizo E10, el consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto) y el consorcio (Rizo E10+ Azoto) tuvieron un mayor grosor de tallo promedio, 2.5cm, 2.39 cm y 2.37 cm respectivamente; en comparación con el agua 2.05cm y el N+ 2.28cm de grosor de tallo. Así mismo, la biomasa fresca los mayor valores promedio fueron del tratamiento solo con Rizo E10, solo con Rizo aisl-1 y el consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto) con 6.4120g, 6.2102g, y 6.1500g respectivamente. Todos los valores superiores al agua 5.0267g y al N+ 3.7081g. Luego se procedió analizar la distribución normal de los datos, para este propósito se aplica la prueba estadística tanto en Kolmogorov-Smirnov, el valor de significancia fue mayor a 0.05 ($p > 0.05$).

Al analizar el valor de significancia, vemos que el valor es superior a 0.05 para todos los parámetros analizados. Por este motivo aceptamos la normalidad de los datos de cada tratamiento. Al realizar el análisis de varianza (ANOVA) entre todos los tratamientos, para ver si hay diferencias significativas en los resultados. Se aprecia que el valor de la significancia o p valor es mayor a 0.05. Por este motivo aceptamos la hipótesis que no hay diferencias significativas. Sin embargo, al realizar el análisis de rangos múltiples de Fisher podemos apreciar que en algunos casos si existen diferencias significativas de los tratamientos a los 30 días de evaluación con un 95% de confianza ($\alpha = 0.05$).

Luego al realizar la prueba de Rangos múltiples, de diferencias mínimas significativas de Fisher (LSD), con un nivel de confianza del 95%, observamos que en la longitud de parte aérea hubo diferencias significativas entre las plantas tratadas con *Azotobacter* y las plantas tratadas con el consorcio (Rizo ais-1+ Azoto); entre *Azotobacter* y el consorcio (Rizo E10+Azoto). Además, se apreció que hubo diferencias significativas en el peso seco de raíz, entre el tratamiento consorcio (Rizo aisl-1+Azoto) y el tratamiento solo con agua. Se apreció diferencias significativas entre en la biomasa fresca entre el tratamiento con Rizo ais-1 y el N+ (KNO₃ 0.1%), entre el tratamiento con Rizo E10 y el N+. Finalmente entre el tratamiento consorcio (Rizo Ais-1+ Azoto) y el N+ (Ver Anexos III, Sección VIII).

f) Análisis de las correlaciones de las variables analizadas

Al realizar el análisis de las correlaciones en SPSS, se apreció que había correlación significativa entre la longitud de raíz y la longitud de la parte aérea. Además, se aprecian diferencias significativas entre el peso fresco de la raíz con la longitud de raíz. Así mismo, se aprecian correlaciones significativas entre el peso seco de raíz con la longitud de raíz, peso fresco de raíz y con el peso seco de la parte aérea. Finalmente se apreciaron correlaciones significativas entre el grosor del tallo con la longitud de la parte aérea, con la longitud de raíz, con el peso seco de la parte aérea y con el peso seco de raíz, con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$).

Cuadro 14. Correlaciones entre las variables analizadas en frijol caupí, luego de 30 días de evaluación

		Correlaciones						
		LPA	LR	PFPA	PFR	PSPA	PSR	GR.TALLO
LPA	Correlación de Pearson	1	,344*	-,265	,019	,273	,060	,342*
	Sig. (bilateral)		,028	,093	,904	,084	,712	,029
	N	41	41	41	41	41	41	41
LR	Correlación de Pearson	,344*	1	-,325*	,404**	,286	,312*	,398*
	Sig. (bilateral)	,028		,038	,009	,070	,047	,010
	N	41	41	41	41	41	41	41
PFPA	Correlación de Pearson	-,265	-,325*	1	,068	-,281	,122	-,067
	Sig. (bilateral)	,093	,038		,675	,075	,446	,678
	N	41	41	41	41	41	41	41
PFR	Correlación de Pearson	,019	,404**	,068	1	,263	,536**	,231
	Sig. (bilateral)	,904	,009	,675		,097	,000	,147
	N	41	41	41	41	41	41	41
PSPA	Correlación de Pearson	,273	,286	-,281	,263	1	,409**	,443**
	Sig. (bilateral)	,084	,070	,075	,097		,008	,004
	N	41	41	41	41	41	41	41
PSR	Correlación de Pearson	,060	,312*	,122	,536**	,409**	1	,426**
	Sig. (bilateral)	,712	,047	,446	,000	,008		,005
	N	41	41	41	41	41	41	41
GR.TALLO	Correlación de Pearson	,342*	,398*	-,067	,231	,443**	,426**	1
	Sig. (bilateral)	,029	,010	,678	,147	,004	,005	
	N	41	41	41	41	41	41	41

*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

4.9 Evaluación de la germinación de las semillas de tarwi en el laboratorio

a) Evaluación durante a las 48h y 72h

En la prueba de germinación el tratamiento con solo *Azotobacter* tuvo el mayor porcentaje de germinación, 52% que el tratamiento con solo agua 36% y al tratamiento solo con nitrógeno (N+) 34%. El tratamiento siguiente, con mayor porcentaje, fue el del consorcio (Rizo ais-1+Azoto) con 40% de germinación, mayor al tratamiento con solo agua 36% y al N+ 34%. Además, durante el transcurso de la experiencia, tuvieron un buen crecimiento radicular. En los siguientes cuadros y gráficos se aprecian estos resultados.

Cuadro 15. Experimento en bandejas con semillas de tarwi luego a las 48h de crecimiento en el Laboratorio

	Número de semillas germinadas	Porcentaje de germinación	Velocidad de germinación (N° semillas germinadas/días)
<i>RIZO AIS-1</i>	12	24%	6
<i>RIZO E10</i>	12	24%	6
<i>Azotobacter</i>	26	52%	13
<i>Rizo ais-1+ Azoto</i>	20	40%	10
<i>AGUA</i>	18	36%	9
<i>N+</i>	17	34%	8.5

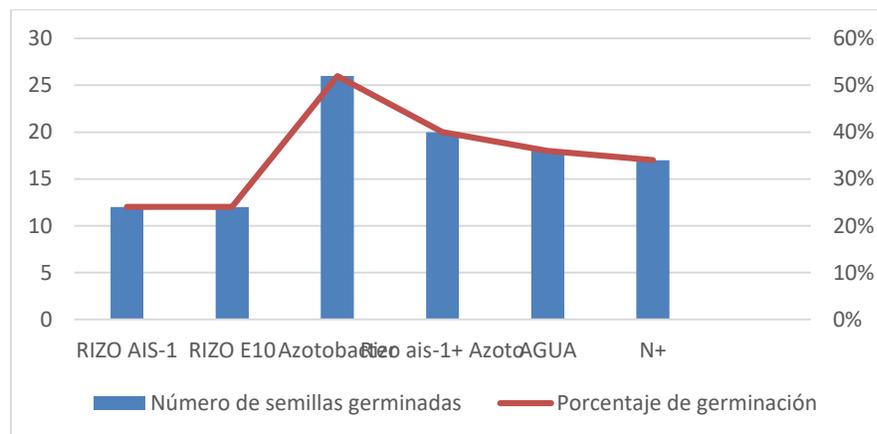


Figura 27. Gráfico comparativo del efecto de las cepas en la germinación de semillas de tarwi luego a las 48h

Cuadro 16. Resultados de la evaluación de las semillas de tarwi integración de los resultados a las 48h, 72h y a los 20 días de crecimiento

Tratamiento	Número de semillas germinadas 48h	Porcentaje de germinación 48h	Número de semillas germinadas 72h	Porcentaje de germinación 72h	Biomasa Fresca(g) 20 días	Biomasa seca(g) 20 días
<i>Rizo ais-1</i>	12	24%	25	50	87.16	9.0860
<i>Rizo E10</i>	12	24%	16	32	80.50	8.5500
<i>Azotobacter</i>	26	52%	35	70	72.58	8.0685
<i>Rizo ais-1+ Azoto</i>	20	40%	27	54	84.68	7.3346
<i>AGUA</i>	18	36%	21	42	74.18	7.4808
<i>N+</i>	17	34%	24	48	83.30	4.2973

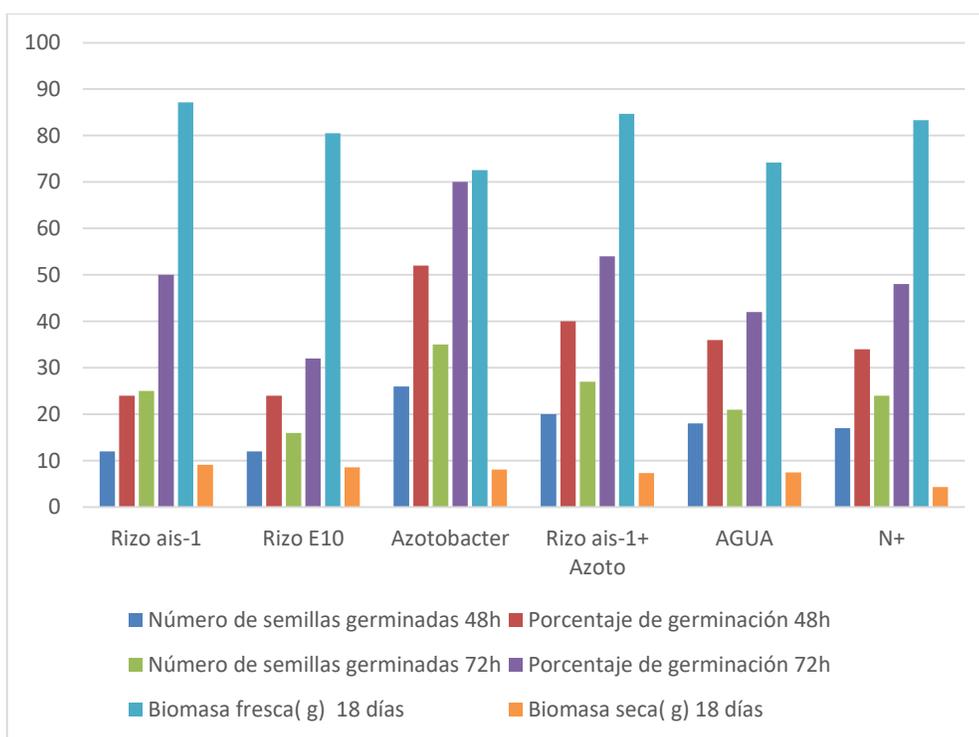


Figura 28. Gráfico comparativo del crecimiento de semillas de tarwi a las 48h, 72h y 20 días de crecimiento

En la figura 28 podemos apreciar en la gráfica que a las 72h, a los tres días, el tratamiento con *Azotobacter* se mantuvo elevado porcentaje de germinación, 70%, superior a todos los demás tratamientos. Además, en la evaluación realizada en este intervalo de tiempo ya se pueden apreciar diferencias en el porcentaje de germinación de las semillas tratadas con *Rhizobium*. Para el caso de Rizo ais-1, 50 %y Rizo E10, 32% respectivamente, lo cual no se apreció a las 48h.

b) Evaluación durante a los 20 días

Al finalizar el experimento, luego de veinte días de crecimiento en las bandejas, se realizó la evaluación de la longitud de la raíz, la longitud de la parte aérea, grosor de tallo. Así mismo, se evaluó la biomasa total de cada uno de los tratamientos. El valor más alto de la biomasa fresca con el tratamiento con Rizo aisl-1, el cual fue 87.16 g superior al tratamiento con agua que obtuvo un 74.18g y del N+ (KNO₃ 0.1%) 83.30g. El segundo alto valor de biomasa fresca fue el del consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto) que obtuvo un 84. 68g , superior al tratamiento con agua 74.18g y tratamiento con N+ (KNO₃ 0.1%) 83.30g. Así mismo, al analizar la biomasa seca del tratamiento con Rizo aisl-1 fue 9.080g superior al tratamiento con agua 7.4808g y el N+ 4.2973g. El tratamiento con Rizo E10, fue también alto 8.55g. En la figura 29, se aprecian la cepa “Riz aisl-1” en comparación a las semillas a la cual se le aplicó el nitrato de potasio KNO₃ al 0.1 % y el agua (Ver Anexos II).



Figura 29. Comparación del tamaño de las plántulas de tarwi, obtenidas a los 20 días luego de la siembra en bandejas

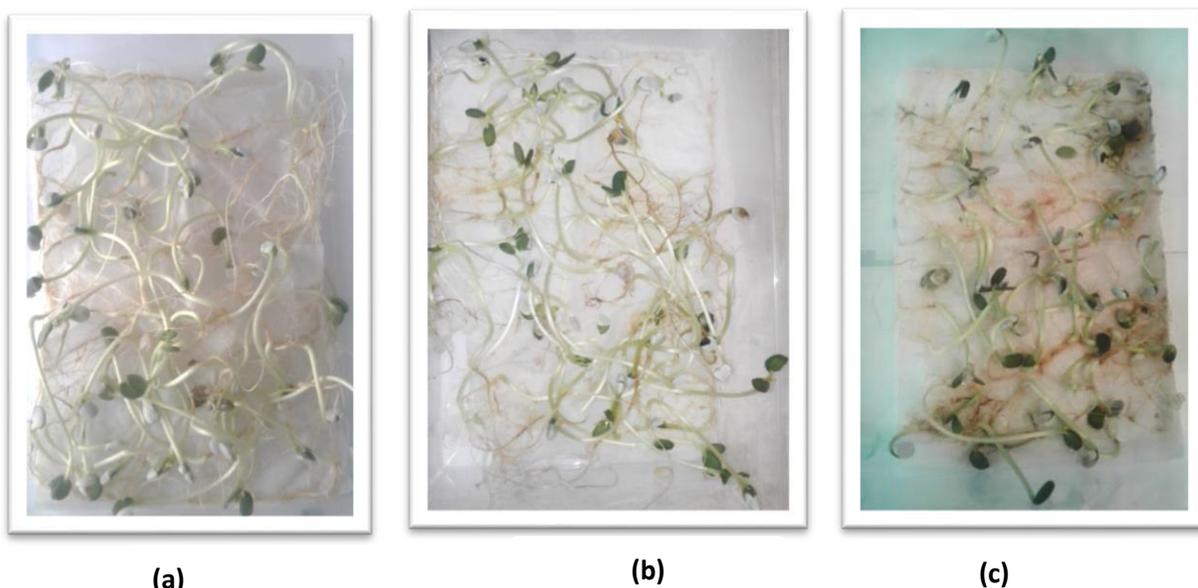


Figura 30. Comparación del tamaño de las plántulas de tarwi en el Laboratorio, obtenidas luego 20 días de la siembra en bandejas (a) plántulas tratadas con el consorcio Rizo aislado+ *Azotobacter*, (b) con nitrato de potasio KNO_3 al 0.1% (c) con agua destilada estéril

En la evaluación final, luego de veinte días, se pudo apreciar que las semillas que habían sido embebidas con un solo inoculante tuvieron un buen rendimiento final, tuvieron mayor número de plántulas en comparación con solo el agua y el nitrato de potasio KNO_3 (ver figura 30).

Se observó que en la bandeja que solo se había añadido agua, la contaminación fue notoria, se observó la presencia de hongos de tipo *Aspergillus*, un hongo que puede colonizar en diversos ambientes, en dos semillas y en una plántula se observó daño en la raíz por el mismo hongo. En las demás bandejas en las cuales solo tenían el inoculante no se apreció contaminación por hongos del ambiente.

4.10 Resultados del experimento de tarwi en invernadero

a) Comparación de los tratamientos en Excel

Luego de realizar la pre-germinación de las semillas, se colocaron en las macetas con suelo. De manera similar al caso del frijol caupí, se evaluó el crecimiento de la parte aérea de las semillas a los 5, 10, 15, 20 días. La temperatura mínima fue de 20°C y la máxima de 30.5°C. A los cinco días, no se apreciaron plántulas enfermas, ni con problemas de hongos o presencia de vectores. Al finalizar el experimento, se obtuvieron 142 plantas en total, de todos los siete tratamientos. Las plantas fueron colocadas en sobres de papel blanco, rotulados previamente. Estas muestras fueron llevadas al laboratorio de la Universidad San Ignacio de Loyola, lugar donde se realizó el secado de las mismas a 70°C, por 48h. Al finalizar ese lapso de tiempo se procedió a determinar el peso seco de la parte aérea (hojas y tallo) y peso seco de raíces. Así también se determinó el peso seco de las muestras. Todos los resultados de las evaluaciones de peso de las plantas se aprecian en el Anexo (III). A los 17 días de siembra ya se apreciaban diferencias entre los tratamientos (ver figura 31). En ella se aprecia el efecto benéfico de la cepa *Azotobacter* superior al tratamiento con N+ y con agua.



Figura 31. Comparación de las plantas de tarwi a los 17 días, azoto y agua en el invernadero

Cuadro 17. Longitud de la parte aérea de las plántulas de tarwi (*Lupinus mutabilis*)

Tratamientos	Evaluación periódica de la longitud de la parte aérea (cm)					
	5 días	10 días	15 días	20 días	25 días	30 días
RIZO AIS-1	7.17	11.15	13.86	15.676	18.886	20.44
RIZO E10	9.04	13.49	18.22	20.919	23.201	24.88
AZOT	10.83	15.03	19.59	23.104	24.742	27.43
RIZO E10+AZOT	9.83	13.09	17.77	21.543	23.276	25.83
RIZO AISL-1.+ AZOTO	8.06	11.73	15.59	18.057	19.803	22.44
AGUA	8.50	12.60	16.51	19.024	20.849	22.73
N+	8.85	14.72	16.18	18.429	21.033	22.90

*Lo resaltado en rojo indica los mayores valores promedio en relación al agua



(a)

(b)

Figura 32. Comparación de las plantas de tarwi a los 17 días (a) Rizo E10 y agua (b)Azoto y agua

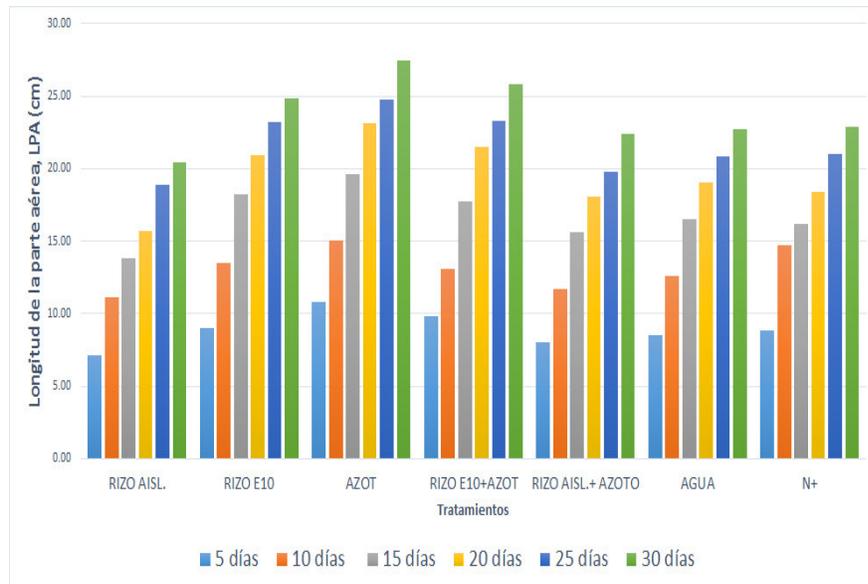


Figura 33. Gráfico del crecimiento de las plantas de tarwi a través del tiempo, longitud de parte aérea (cm) en invernadero

En la gráfica 30, se aprecia la evolución del crecimiento de las plantas de tarwi. Se puede apreciar que la longitud de la parte aérea de mayor valor del tratamiento con *Azotobacter*. Este tratamiento superó al resto de tratamientos durante todo el periodo de evaluación.

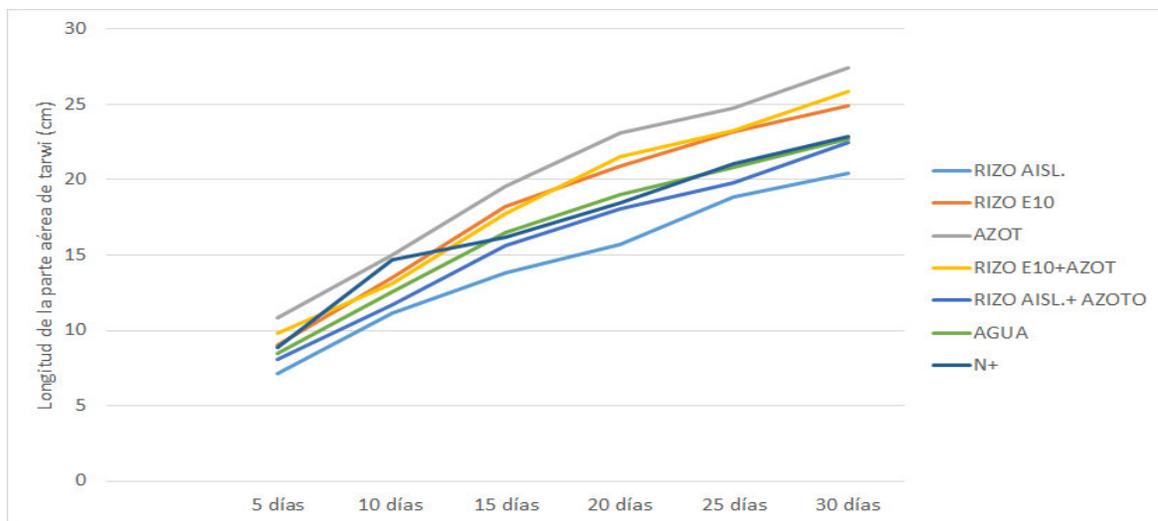


Figura 31. Gráfico de la evolución del crecimiento de las plantas de tarwi a través del tiempo, longitud de parte aérea (cm) en invernadero

b) Análisis estadístico en SPSS y en *Statgrafics Centurion* del ensayo en macetas con tarwi a los treinta días de crecimiento

Luego de realizar la prueba en SPSS (Ver cuadro 18). En relación a la longitud de la parte aérea, el tratamiento solo con *Azotobacter* tuvo la mayor longitud de parte aérea (cm) (LPA) promedio 27.42cm en comparación al tratamiento con agua 22.73 cm y el tratamiento solo con N+ (nitrato de potasio) 22.90 cm. En segundo lugar, el tratamiento del consorcio (Rizo E10+ Azoto) tuvo un LPA de 25.83 cm de LPA, superior al N+ y el agua. Al evaluar la longitud de la raíz (LR), el tratamiento solo con *Azotobacter* fue de 15,11 cm de raíz superior al agua 8.63 cm y para el N+ 11.74cm de LR. Además de se observó mayor abundancia de raíz para el caso de *Azotobacter* (Ver Anexo IV, figura 32).

Al analizar el peso fresco de la parte aérea (PFPA) se observó que el tratamiento solo con la cepa Rizo E10, tuvo un mejor PFPA en el efecto en las plantas. Esta cepa tuvo un peso fresco de parte aérea de 2.306g. Este tratamiento fue superior, el agua 2.2497 g, el N+ 2.0140 g. En relación al peso fresco de la raíz (PFR) el mayor peso de raíz de todos los tratamientos fue con *Azotobacter* con 0.5422g de raíz. Así mismo, al realizar las comparaciones del peso seco de la parte aérea (PSPA), el tratamiento con el consorcio (*Rizo E10+ Azoto*) generó un mayor peso seco de parte aérea, 2.10109 g, superior al N+ 0.1760g y al agua 0.196304g. Así también, el tratamiento solo con *Azotobacter* tuvo también un buen peso seco de parte aérea, con un 0.204185g. El mayor peso seco de la raíz (PSR) fue el tratamiento con el consorcio (Rizo E10+ Azoto), con 0.5746g, seguido del tratamiento con *Azotobacter* 0.57346g, superior al tratamiento solo con agua 0.29953g y al N+0.23088g.

En relación al grosor de tallo, el consorcio (Rizo E10+ Azoto) tuvo un mayor grosor de tallo 2.311 cm, superior al agua 2,1528 cm y al N+ 2.033cm. Finalmente la mayor biomasa fresca fue de *Azotobacter* con un 2.8397g superior al agua 2.5608g y al N+ 2.5190g. El tratamiento con el consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto) fue el segundo tratamiento con mayor biomasa fresca en comparación con, 2.7024g, en comparación con el agua 2.5608g y el N+, 2.4190g.

Así mismo, se realizó la prueba de normalidad, en la prueba Kolmogorov-Smirnov, se observa que los valores del sig. o p valor es mayor a 0.05, por lo tanto se acepta la hipótesis de normalidad de los datos finales de tarwi. Luego de realizar la prueba complementaria análisis de varianza, se confirmó que valor del sig o p valor es mayor a 0.05, en este caso este resultado significa que no habría diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos analizados. Sin embargo, puede realizarse pruebas de múltiples rangos.

Se realizó en análisis estadístico en el programa *Statgraphics Centurion*. En el cual se registraron los siguientes resultados: en el procedimiento de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD), observamos que el parámetro analizado número de hojas no hubo diferencias significativas entre todos los tratamientos con un nivel de confianza del 95% ($\alpha = 0.05$). Al realizar el análisis comparativo de los rangos múltiples de los tratamientos, procedimiento de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD), para el parámetro LR (longitud de raíz) si se observó varias diferencias significativas entre varios tratamientos. Así se apreciaron diferencias significativas entre el tratamiento solo con Rizo aisl-1 y el tratamiento solo con *Azoto*; entre el tratamiento solo con Rizo E10 y el tratamiento solo con *Azoto*. Finalmente entre el tratamiento solo con *Azoto*. y el consorcio (Rizo E10 +*Azoto*) y finalmente entre el tratamiento solo con *Azoto*. y el agua.

Al realizar el análisis comparativo de los rangos múltiples de los tratamientos, procedimiento de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD) para la PFFA se apreció que no diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos analizados. Al realizar la misma prueba estadística para el para la PSPA, no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre todos los tratamientos analizados. Sin embargo, en el caso del PSR (peso seco de raíz), si se apreciaron diferencias significativas entre varios tratamientos. Estas diferencias significativas fueron entre el tratamiento solo con Rizo aisl-1 y el tratamiento con el consorcio (Rizo E10+ *Azoto*); entre el tratamiento Rizo E10 y el consorcio (Rizo E10+*Azoto*).

Así también hubo diferencias significativas entre el tratamiento con solo *Azotobacter* y el tratamiento N+; entre el tratamiento con el consorcio (Rizo E10+Azoto) y el tratamiento consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto); entre los tratamientos consorcio (Rizo E10+ Azoto) y el agua. Finalmente, entre el tratamiento consorcio (Rizo Aisl-1 + Azoto) y el N+. Finalmente, no se apreciaron diferencias significativas en el grosor de tallo ni en el parámetro biomasa fresca.

b) Evaluación de la correlación de todos los tratamientos analizados

Analizando las correlaciones entre las características observamos que existen correlaciones estadísticamente significativas entre la longitud de la parte aérea y el número de hojas; la longitud de raíz con el número de hojas y la longitud de la parte aérea (Ver Cuadro 18). Además se aprecian correlaciones significativas entre el peso fresco de la parte aérea con el número de hojas y la longitud de parte aérea; el peso fresco de raíz con el número de hojas, longitud de parte aérea y longitud de raíz; el peso seco de la parte aérea con el número de hojas, con la longitud de la parte aérea, con la longitud de raíz, con el peso fresco de la parte aérea y con el peso fresco de raíz. Así mismo, hay correlaciones significativas entre el peso seco de raíz con el número de hojas, con longitud de parte aérea, con el peso fresco de parte aérea, con el peso fresco de raíz y con el peso seco de la parte aérea; a un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$).

Por otro lado, al analizar la biomasa fresca de los tratamientos. Se apreciaron correlaciones significativas entre la biomasa fresca con el número de hojas, con la longitud de la parte aérea, longitud de raíz, con el peso fresco de la parte aérea, con el peso fresco de la raíz, con el peso seco de parte aérea y el peso seco de raíz; a un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$).

Cuadro 18. Correlaciones entre las características evaluadas en el tarwi a los 30 días de evaluación

		Correlaciones								
		N.HOJAS	LPA	LR	PFPA	PFR	PSPA	PSR	GROSOR	BIOMASA
N.HOJAS	Correlación de Pearson	1	,869**	,590**	,473**	,666**	,661**	,371*	-,283	,625**
	Sig. (bilateral)		,000	,000	,002	,000	,000	,016	,069	,000
	N	42	42	42	42	42	42	42	42	42
LPA	Correlación de Pearson	,869**	1	,597**	,552**	,648**	,745**	,425**	-,257	,692**
	Sig. (bilateral)	,000		,000	,000	,000	,000	,005	,101	,000
	N	42	42	42	42	42	42	42	42	42
LR	Correlación de Pearson	,590**	,597**	1	,150	,673**	,395**	,287	-,138	,350*
	Sig. (bilateral)	,000	,000		,342	,000	,010	,065	,385	,023
	N	42	42	42	42	42	42	42	42	42
PFPA	Correlación de Pearson	,473**	,552**	,150	1	,293	,539**	,320*	-,033	,927**
	Sig. (bilateral)	,002	,000	,342		,059	,000	,039	,835	,000
	N	42	42	42	42	42	42	42	42	42
PFR	Correlación de Pearson	,666**	,648**	,673**	,293	1	,392*	,381*	-,120	,550**
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,000	,059		,010	,013	,449	,000
	N	42	42	42	42	42	42	42	42	42
PSPA	Correlación de Pearson	,661**	,745**	,395**	,539**	,392*	1	,499**	-,150	,566**
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,010	,000	,010		,001	,343	,000
	N	42	42	42	42	42	42	42	42	42
PSR	Correlación de Pearson	,371*	,425**	,287	,320*	,381*	,499**	1	-,033	,318*
	Sig. (bilateral)	,016	,005	,065	,039	,013	,001		,833	,040
	N	42	42	42	42	42	42	42	42	42
GROSOR	Correlación de Pearson	-,283	-,257	-,138	-,033	-,120	-,150	-,033	1	-,146
	Sig. (bilateral)	,069	,101	,385	,835	,449	,343	,833		,355
	N	42	42	42	42	42	42	42	42	42
BIOMASA	Correlación de Pearson	,625**	,692**	,350*	,927**	,550**	,566**	,318*	-,146	1
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,023	,000	,000	,000	,040	,355	
	N	42	42	42	42	42	42	42	42	42

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* . La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

CAPITULO 5. DISCUSIONES

5.1 Aislamiento e identificación de colonias de *Rhizobium*

Se obtuvieron cuatro cepas, de las cuales se eligió una de ellas para los diversos ensayos realizados en las semillas y plantas. Las características de las colonias coinciden con los registrados por Gonzales (2013) y Matsubara (2010). Las colonias presentaran consistencia gelatinosa, esta textura elástica encontrada se debe a la producción de exopolisacáridos (EPS), los cuales están conformados por polímeros de glucosa y otras hexosas. Éstos exopolisacáridos cumplen un rol importante en la simbiosis con las leguminosas y en forman parta de la cápsula bacteriana. Según Rinaudi (2010), los EPS son importantes componentes que le dan forma y estabilidad a los biofilms bacterianos.

En relación a la cepa *Rizo E10*, fue obtenida del Laboratorio Marino Tabusso (LMT). La cepa fue anteriormente investigada por Gonzales (2013), la cepa fue aislada de suelos de La Molina en el año 2006 y tuvo buenos resultados en laboratorio. Así mismo, en base a la evaluación molecular realizada por Zúñiga (2013) la cepa correspondería a *Rhizobium phaseoli*. En el año 2015, la cepa Rizo E10, la cepa fue aplicada en el cultivo de frijol, en ese estudio se apreció que obtuvo un reducido número de nódulos.

5.2 Tinción Gram de colonias de *Rhizobium*

La tinción de Gram permite la diferenciación de grupos bacterianos Gram positivas y Gram negativas. La diferencia de las mismas radica entre otras a: la composición de su pared celular mientras que las Gram negativas tienen entre un 10 a 20 % de peptidoglucano las Gram positivas tienen 60 a 80% de peptidoglucano es decir poseen una pared celular más gruesa. La función de la pared es la de proteger dar forma y rigidez a la célula (Madigan, 2012; Tortora, 2007). Al realizar el procedimiento de tinción el colorante Cristal violeta forma un

complejo con el yodo CV-I en la pared celular Al agregarle el alcohol-cetona, este cumple la función de decolorar las células, es decir pierden el primer colorante cristal violeta, debido a que la capa de las Gram negativas es delgada 10 a 20% de peptidoglucano. De tal manera que al agregarle el colorante de contraste, la safranina, las células lo retienen. Por los motivos anteriores, al visualizar las células al microscopio se aprecian de color rojo.

En el procedimiento de tinción Gram no se hubo dificultades a realizar el protocolo, todos los reactivos estuvieron disponibles para la realización de la prueba. Sin embargo, debo mencionar que el colorante safranina estaba muy concentrado, por este motivo de dificultaba la apreciación de las células. Por este motivo, se recomienda concentrar más el colorante para poder hacer una mejor visualización. Además, de colocar siempre una gota de aceite de inmersión encima del portaobjeto.

5.3. Aislamiento e identificación de colonias de *Azotobacter*

La cepa obtenida poseía todas las características de *Azotobacter*, la presencia de transparencia, lisas, brillantes con mucosidad en el medio Winogradsky al tercer día de aparición en la placa. León y col (2017), realizaron similares observaciones, los investigadores sostienen que las bacterias del género *Azotobacter* son incoloras, traslúcidas y aparecen en el medio Winogradsky a partir de los tres días hasta los cinco días de evaluación, lo cual coincide con el estudio realizado. Este medio de cultivo es un medio específico y al ser un medio libre de nitrógeno, nos permite obtener cepas fijadoras libres, es decir sin asociación simbiótica. Esta cualidad nos aproxima al género bacteriano y nos da la garantía que la cepa estudiada es una bacteria fijadora de nitrógeno del tipo *Azotobacter*. Un resultado similar obtuvo Rico (2009) al realizar los aislamientos en el medio mineral sin nitrógeno (MMSN) morfología característica del género es decir, colonias de superficie lisa, brillantes u opacas, ligeramente convexas y apariencia mucoide.

5.4. Tinción Gram y de flagelos de *Azotobacter*

En relación a la tinción Gram, la cepa que tenía características típicas de *Azotobacter* son consideradas Gram negativas, estos resultados coinciden con la tesis realizada por Rico (2009). En la investigación que realizó el investigador obtuvo también células de color rojo en la tinción de Gram, lo cual indica que son bacterias Gram negativas. En Argentina, Rubio obtuvo un resultado similar, al realizar la tinción Gram. Los investigadores confirman los resultados obtenidos en la evaluación inicial. Al finalizar la tinción de flagelos podemos afirmar que con el reactivo Leifson se logró observar la morfología de las cepas *Azotobacter* con mayor claridad y nitidez. Además se apreciaron los detalles de las células, que este caso son cocoides en el aumento de 100X, no se apreciaron flagelos con notoriedad. Sin embargo, si se apreció movimiento de fluidos que correspondían a la muestra analizada.

5.5 Efecto de las cepas individuales (*Rhizobium* o *Azotobacter*) en la germinación de semillas de frijol caupí

En el experimento realizado las semillas se evaluó la germinación a los las 48h (2días) y a los 18 días. Se observó que las semillas inoculadas con *Rhizobium*, código RizoE10, tuvieron un buen porcentaje de germinación a las 48h de colocarlas en las bandejas 78%, en comparación al agua 66%. En ese mismo tiempo la cepa Rizo ais-1, tuvo un 76% superior al agua. Las semillas de frijol caupí con nitrato de potasio tuvieron un 86% de porcentaje de germinación; el cual fue el valor más alto con respecto a los demás tratamientos. Según Rubio (2003), en la investigación realizada en Argentina bajo condiciones de laboratorio obtuvo buenos resultados con cepas de *Azotobacter* aplicados al cultivo de trigo, con germinación de las mismas en bandejas. Lo cual en la presente investigación confirmamos que es un método óptimo y adecuado para realizar las pruebas de promoción de crecimiento y efecto de las cepas en las semillas. Sin embargo se debe resaltar que el método puede ser modificado según las necesidades del investigador y en beneficio del desarrollo de la semilla.

Las semillas para germinar requieren de oxígeno, temperatura no muy elevada, un sustrato húmedo (Ascon-Bieto y Talon, 2013). Según Alban (2012), el frijol caupí puede prosperar entre 18 y 40°C, con un rango óptimo entre 20 °C y 35°C. Además, para lograr una eficiente germinación se requiere de una temperatura de 21°C. En el laboratorio las condiciones ambientales fueron las óptimas porque la temperatura, como se mencionó previamente, la temperatura del ambiente fluctuaba entre 20 a 21 °C durante la noche y 18-19°C durante el día, lo cual nos indica que fue un temperatura óptima para la germinación de las semillas.

Al analizar la biomasa total de frijol caupí presente en las bandejas a los 18 días. La mayor biomasa fresca fue de Rizo E10, con 46g de fresca en comparación con el agua 37g y el N+ 45g. Además, al evaluar la materia seca esta misma cepa obtuvo una materia seca de 6.48g, la cual fue mayor al control con agua 6.26g. Estos resultados nos indican que la cepa desde los primeros estadios de vida de la planta la bacteria ya genera un reconocimiento químico con la planta lo cual beneficia en su desarrollo inicial.

En el experimento adicional de frijol caupí en bandejas, se utilizaron dos tiempos diferentes de imbibición, solo para la cepa *Azotobacter*, con el objetivo de conocer cómo influencia en el resultado final de la germinación y en la materia seca. La cepa *Azotobacter* (30´) tuvo el mayor número de semillas germinadas a las 48h con un valor de 80% de germinación superior al N+, el cual fue de 58% y al agua 66% en cambio la cepa *Azotobacter* (40´) tuvo un menor porcentaje de germinación de 76% de germinación a las 48h. Este resultado posiblemente se debe a que las semillas requieren menos solutos(o bacterias), es decir más contenido de agua para germinar, por lo que si se tiene menor tiempo para embeberse tendrá menos posibilidad de tener solutos.

Al realiza la evaluación luego de 18 días, en las bandejas, las cepas *Azotobacter* (40´) generó una mayor materia seca 6.363g de las plántulas superior al agua 4.103g y al N+ 4.813g. Al comparar este resultado con la materia seca generada con *Azotobacter* (30´) esta fue de 6.223g el cual fue menor que el dato anterior. Este resultado sugiere que si hay mayor concentración de las células en las semillas generan un buen crecimiento en las semillas. El motivo del mejor rendimiento de la materia seca se debe posiblemente a la liberación de sustancias benéficas, tales como fitohormonas ácido Indolacético, giberelinas rivoftavinas, nicotina (Jnawali et al, 2015). En la investigación realizada por Constantino (2010), al evaluar el efecto de los biofertilizantes en semilla de papaya, obtuvo que los tratamientos simples con *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum brasilense*, incrementaron el porcentaje de germinación a 90,28 y 88,89% respectivamente, muy similar al resultado obtenido en el experimento realizado.

Las bacterias conocidas como PGPR o promotoras de crecimiento, tales como las bacterias *Azotobacter*, pueden mejorar la germinación de las semillas a través de la producción y liberación de algunas sustancias reguladoras del crecimiento vegetal como la auxina, las citoquininas o giberelinas, ácido Indolacético (AIA) en medios químicamente definidos y en asociación con plantas (Kloepper et al,1990; Verma, 2010). Lo cual confirma nuestra hipótesis inicial que mejora el crecimiento de la plantas del frijol caupí.

Al evaluar los procedimientos de la investigación, éstos se realizaron de manera óptima. Sin embargo, es recomendable el realizar por lo menos tres repeticiones del experimento en forma simultánea para ello es necesaria contar con un área disponible, mayor cantidad de insumos y equipos. Todo ello con el objetivo de realizar posteriormente la reproducibilidad de los resultados. Así también es vital cuidar el ambiente del ingreso de esporas de hongos, los cuales pueden alterar el experimento y los resultados finales.

5.6 Efecto del consorcio bacteriano en las semillas de frijol caupí colocadas en las bandejas

Luego de realizar la comparación de los porcentajes de germinación del frijol caupí en bandejas, las semillas inoculadas con un solo tipo de inoculante tuvieron porcentajes superiores que el inoculante mixto. En el caso de Rizo aisl-1, un 76% de germinación; Rizo E10, 78% de germinación y en el caso del consorcio bacteriano (Rizo aisl-1+ Azoto), 68% de germinación. Estos resultados no coinciden con los datos teóricos, como el caso de la investigación realizada por Verma et al (2010), quienes mencionan que el efecto de los consorcios bacterianos es mucho mayor en tratamientos con cepas individuales.

Por otro lado, el consorcio (Rizo aisl-1+ Azot), tuvo un tiempo de imbibición de 40', con un 60% de porcentaje de germinación menor al agua, que tuvo un 80% de germinación. En el caso del consorcio (Rizo aisl-1+Azot), con un tiempo de imbibición de 30' tuvo un porcentaje de germinación de 70%, mayor al agua 60%. Estas diferencias pueden deberse a que si el tiempo de imbibición es menor hay menos posibilidad que las semillas sean impactadas por el exceso de viscosidad. A mayor tiempo de imbibición hay más contacto con las semillas y puede afectar la captura de oxígeno por las semillas y por lo tanto la germinación. Este efecto fue observado por Teixeira et al (2017) al observar el efecto del estrés salino inducido por el polietilenglicol y el manitol en diferentes dosis de sal de NaCl y CaCl₂, en la germinación de las semillas de frijol castilla (*Vigna unguiculata*).

5.7 Efecto de todos los tratamientos en las plantas de caupí en invernadero

Según el análisis estadístico de las plantas a los 5, 10, 15, 25 y 30 días. Las plantas tuvieron una diferencia significativa en los primeros días de crecimiento en el parámetro longitud de parte aérea especialmente en los días 5, 10 y 15.

A los treinta días de evaluación se evidenciaron diferencias notables en el análisis estadístico con el programa SPSS, cepa RizoE10, inoculante individual, tuvo un mejor peso fresco de raíz promedio, peso seco de la parte aérea, grosor de tallo y biomasa fresca que el tratamiento con agua y al N+. En segundo lugar la cepa

Rizo aisl-1 también tuvo un resultado bueno, mayor longitud de raíz, peso seco de la parte aérea y biomasa fresca promedio en comparación con el agua; mayor longitud de raíz y biomasa fresca que el N+.

Estos resultados nos indican que hay un efecto benéfico en el crecimiento de la planta, en el aumento de la biomasa seca y podemos extrapolar y decir que llevará a una mejor productividad del cultivo a largo plazo. Sin embargo, debemos tener en cuenta que la respuesta más efectiva de la inoculación en los diversos parámetros analizados puede verse afectado debido a la microflora bacteriana presente en los suelos, el cual compite con los inoculantes y puede repercutir en la respuesta a la inoculación, los factores ambientales del suelo.

Así Marquina y col (2011), menciona que las cepas de *Rhizobium* aisladas de suelos de Egipto se desarrollan muy bien a pH4.4. Gonzales (2013), de acuerdo a estudio realizado con cepas de *Rhizobium*, menciona que el rango óptimo de pH es entre 4-8.8. Además, que la tolerancia al pH bajo, es decir 4.0, solo el 57% de las cepas lo toleraron. En el presente estudio el pH del suelo fue de 5.5 por lo cual se puede afirmar que es un pH óptimo para el desarrollo de la bacteria. Además del pH otra característica a considerar es la menor carga microbiana o que haya pasado un tiempo sin haber sido fertilizado o sea un suelo pobre que requiere de microorganismos benéficos.

Los resultados obtenidos con las cepas *Rhizobium* también han sido registrados por diversos autores a nivel nacional e internacional. Las cepas de *Rhizobium* por ser consideradas promotoras de crecimiento vegetal, como sostienen Antoun y Prevost (2005), investigador de Canadá y una revisión muy exhaustiva de Verma et al (2010), en sus publicaciones registra los resultados obtenidos en diversas investigaciones en la India, experimento en invernadero y campo aplicando *Rhizobium* en cultivos de frijol, lechuga, trigo, papa, algodón, cebada con una cepa única y en consorcio con otros tipos de bacterias promotoras de crecimiento vegetal.

A nivel nacional, los autores mencionan que estas cepas generan un buen rendimiento de materia seca en las plantas superior al agua. Santillana (2007), Matsubara (2010) y Gonzales (2013) también registraron resultados similares de las cepas de *Rhizobium* utilizadas en sus ensayos con haba, pallar y frijol var ‘canario centenario’ respectivamente.

5.8 Análisis sobre la presencia de hongos en las bandejas

Uno de los resultados que fue también notable fue la presencia de hongos en las bandejas. En especial hubo mayor presencia de hongos en las bandejas que estaban tratadas con agua, nitrato de potasio. En cambio en las bandejas tratadas con las cepas de *Azotobacter* y *Rhizobium* de forma individual y en consorcios no se apreció la presencia de hongos en ninguno de ellos. Este resultado puede deberse a que en el caso de *Azotobacter* produce polihidroxifenoles o fenolatos los cuales inhiben el crecimiento de los hongos, como sostienen Rodríguez y col (2016).

5.9 Contraste de los resultados con las hipótesis planteadas

En la primera hipótesis planteamos lo siguiente: *“La aplicación de un biofertilizante constituido solo por Rhizobium mejora el crecimiento de las plantas del frijol caupí y en el tarwi”*.

Experimento en bandejas y en invernadero de frijol caupí

Las semillas tratadas con la cepa Rizo E10, en bandejas, tuvieron un buen porcentaje de germinación 78%. Este porcentaje fue mayor que el del agua, 66% a las 48h de evaluación. Al finalizar el experimento, 18 días, las plántulas con la cepa Rizo E10 tuvieron mayor valor de biomasa fresca en comparación con las semillas tratadas con agua y el N+. Las semillas con Rizo E10, la cual tuvo una mayor biomasa seca superior al agua. En relación al experimento en invernadero, se observó diferencias entre los cinco y diez días de evaluación. A los treinta días de evaluación las cepas individuales de *Rhizobium* es decir el tratamiento solo con Rizo E10 y solo con Rizo aisl-1, fueron las de mejor respuesta en el invernadero. Además, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento Rizo aisl-1 y el tratamiento N+(nitrato de potasio). También del

tratamiento con Rizo E10 y N+ y entre el tratamiento consorcio (Rizo aisl-1 +azoto) y el tratamiento N+.

Experimento en bandejas y ensayo en invernadero en tarwi

En la evaluación del cultivo de tarwi realizado en el Laboratorio. Luego de 18 días de evaluación, se apreció que la cepa Rizo ais-1 tuvo un buen contenido de biomasa fresca y seca, en ambos casos superior al agua y al N+. Así mismo, la cepa Rizo E10, fue la cepa con buen peso de biomasa seca, también superior este valor al agua y al N+. Así también, la cepa Rizo E10 fue una de las mejores cepas en el ensayo en plantas realizado en el invernadero. A los treinta días de evaluación, tuvo un buen crecimiento, longitud de parte aérea con respecto al agua.

Por los motivos expuestos podemos afirmar, que para ambos cultivos, las cepas de *Rhizobium* sp tuvieron un efecto benéfico en la germinación y en el crecimiento a los 18 días, en el laboratorio. Así mismo, las mismas cepas tuvieron un efecto benéfico en las plantas frijol caupí, especialmente en la materia fresca y seca al realizar la inoculación en invernadero, muy similar al caso del tarwi. Estas evidencias confirman la hipótesis planteada inicialmente.

En la segunda hipótesis planteamos lo siguiente: *“La aplicación de un biofertilizante constituido solo por Azotobacter mejora el crecimiento de las plantas de caupí y en el tarwi”.*

Experimento en bandejas y ensayo en invernadero en frijol caupí

Las semillas tratadas con *Azotobacter*, en bandejas, de frijol caupí tuvieron un buen porcentaje de germinación en bandejas fue de 80%, con treinta minutos de imbibición, fueron superiores al agua (66%) y al N+ (58%). Además, la materia seca del tratamiento con Azoto fue superior al agua y al N+. De manera similar, en el experimento en macetas, en invernadero, con el mismo cultivo, las plantas de frijol caupí inoculadas con *Azotobacter* al finalizar el experimento, se observaron diferencias en la longitud de la parte aérea. Además, el peso fresco de la parte aérea (PFPA) promedio del tratamiento con *Azotobacter* fue mayor que el agua.

Experimento en bandejas y ensayo en invernadero en tarwi

Las semillas tratadas con *Azotobacter*, en el experimento en bandejas, tuvieron un buen porcentaje de germinación, 52%, el cual fue mayor que el agua 36% y el tratamiento con N+ 34%. Al evaluar la germinación a las 72h pudimos apreciar que el porcentaje mejoró aún más. Las semillas pasaron de 52% de germinación, a las 48h, a 70% de germinación, a las 72h, para el caso de *Azotobacter*. Así mismo, la biomasa seca fue superior al agua y al N+. De manera muy similar, de los resultados en invernadero, al realizar la evaluación final se apreció diferencias en el crecimiento de las plantas. En las figuras también se observan las diferencias observadas en el cultivo desde el día 12 al 15 de evaluación.

Al realizar la evaluación de tratamiento en mención tuvo los mayores valores de peso fresco de raíz, grosor de tallo y biomasa fresca en comparación al agua y al N+. Así también en base a prueba estadística de Fisher, hubo una buena diferencia estadísticamente significativa, lo cual corrobora las observaciones realizadas para las cepas de *Azotobacter*.

Las evidencias mencionadas anteriormente, confirman la hipótesis planteada inicialmente en la investigación. Es por estos motivos que podemos afirmar que las cepas de *Azotobacter* mejoraron el crecimiento de las plantas de frijol caupí y tarwi.

En la tercera hipótesis planteamos lo siguiente: “*La aplicación de un biofertilizante constituido por el consorcio bacteriano Azotobacter y Rhizobium mejora el crecimiento de las plantas del frijol caupí y en el tarwi*”.

Experimento en bandejas y ensayo en invernadero en frijol caupí

La aplicación del consorcio *Azotobacter* y *Rhizobium* (Rizo ais-1+ Azoto) en semillas de caupí, en bandejas, tuvo un buen porcentaje de germinación 68%, mayor al tratamiento agua, el cual obtuvo un porcentaje de 66%. Además, se observó que el consorcio también promueve el crecimiento de las raíces, en especial el cultivo de caupí en invernadero. El consorcio conformado por “Rizo

aisl-1+Azoto” tuvo un buen efecto en las raíces, en especial en las observaciones realizadas a los 10 días. Sin embargo, el consorcio conformado por las cepas “Rizo E10 + Azoto” tuvieron un menor efecto.

Experimento en bandejas y ensayo en invernadero en tarwi

En el ensayo realizado en bandejas, las semillas de tarwi, el consorcio conformado por “Rizo ais-1+ Azoto” tuvo un buen porcentaje 52%, mayor al porcentaje al tratamiento con agua 36% y al tratamiento N+34%. Las diferencias de crecimiento no eran muy notorias con respecto a los inoculantes individuales. Pero un dato interesante fue que las semillas tratadas con este biofertilizante mixto o consorcio bacteriano, tuvieron un peso seco superior al N+ y al agua.

Al realizar el ensayo en invernadero, los tratamientos solo con Azotobacter y el consorcio (Rizo E10+ Azoto) tuvieron un efecto bueno en el crecimiento de las plantas de tarwi a los 30 días de evaluación. Los resultados nos indican que hay un efecto benéfico del biofertilizante mixto, en especial el tratamiento consorcio (Rizo E10 + Azoto) en el tarwi fue mucho más notorio el efecto. Esta afirmación es respaldada por diversos investigadores. Así según Babu et al (2015) las cepas promotoras de crecimiento vegetal (PGPR), mejoran la biomasa de las plantas, la toma de nutrientes y el rendimiento, especialmente cuando son aplicados en combinación.

En el caso de plantas no leguminosas, es necesario modular los procesos de colonización y supervivencia, como ocurre a menudo con las cepas *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* en la rizósfera, en los cuales es necesaria la incorporación de cepas adicionales, como agentes promotores de crecimiento vegetal (PGPR); debido a que, éstas incrementan el crecimiento de brotes y raíces, el desarrollo de la raíz, regulación hormonal de la planta, fijación de nitrógeno, la solubilización de minerales y la supresión de patógenos, la colonización de la raíz, los cuales son pasos importantes en la asociación microbiana con las plantas.

Gomez(2010), aisló bacterias rizosféricas de nódulos de tarwi, de muestras provenientes de Ancash. Estas cepas fueron caracterizadas como mesorizobium, lo cual también se recomienda investigar, aislar, purificar y posteriormente aplicarlo a otras variedades de Lupinus.

En las investigaciones realizadas por Verma et al (2010) reportan una serie de ensayos con bioinoculantes mixtos, interacciones entre especies del género *Rhizobium* con otras bacterias con cualidades promotoras de crecimiento tales como, *Pseudomonas*, *Azospirillum* y *Bacillus* para frijol, alfalfa, garbanzo, y pastos. También emplearon bacterias *Rhizobium*, *Pseudomonas fluorescens*, *B. megaterium* y *A. chroococcum*, los cuales generaron incrementos significativos de peso de nódulos, raíz y biomasa de brotes, total de nitrógeno de la planta debido a la coinoculación.

6.0 Consideraciones finales

Las cepas de *Rhizobium* son clasificados taxonómicamente con técnicas de la Biología molecular. Así por ejemplo los rizobios poseen el gen ARN16s, gracias a la cual se han logrado encontrar al menos 33 especies y poder así clasificarlas en la familia Rhizobiacea (Rivas y col, 2009). Por este motivo para estudios avanzados de la biología de la bacteria es necesaria la realización de técnicas complementarias a la realizada en el presente estudio, en especial para lograr la identificación bacteriana más precisa de la especie.

Por otro lado, la capacidad promotora de crecimiento, fue la característica analizada en las cepas *Rhizobium*, esta capacidad fue notoria al realizar los ensayos en bandejas y en invernadero lo cual se observó el efecto benéfico tanto en el ensayo en bandejas como en el ensayo en invernadero. Las cepas rizo aisl-1 fue obtenida directamente de un nódulo en el cultivo de frijol, previamente desinfectado. Se genera una nueva hipótesis que genera esta promoción de

crecimiento. Una de las posibles repuestas a este cuestionamiento sería la fijación de nitrógeno, endófito y no a través de la formación de nódulos. Similar observación realizó Santillana (2007) quien evaluó el potencial PGPR de *Rhizobium* en tomate y no observó nódulos pero si observó promoción de crecimiento. Gonzales (2013) y Matsubara (2010), en los estudios realizados en cuartos de plantas observaron una respuesta benéfica en la inoculación de *Rhizobium* a nivel de laboratorio luego de la inoculación de 1mL por planta. En relación a las cepas de *Azotobacter* es necesaria la realización de evaluaciones complementarias en especial de los diversos compuestos químicos que liberan las diversas bacterias como fitohormonas AIA (ácido Indolacético) y giberelinas.

Hay diversos factores que tienen una influencia en los resultados de la biofertilización que debemos considerar antes de su aplicación en campo. Aquí detallo tres factores que debemos considerar para el caso del frijol caupí. En primer lugar, la temperatura, debido a que debe ser óptima para la bacteria. Hay diversos estudios que indican que la temperatura es un factor que debemos tener presente, debido a que temperaturas superiores a 30°C pueden afectar a las leguminosas afectan el cuajado de las flores, reducen el tamaño del grano y el número de granos por vaina (Palomino, 2015). En el caso del cultivo de caupí, se adapta muy bien a climas cálidos, la cepa también debe tener la capacidad de adaptación al mismo. A temperaturas muy bajas (menor a 8°C) también puede generar una inhibición de las bacterias. Así también, el riego es factor que debemos considerar, las plantas de tarwi, son susceptible al exceso de riego, lo cual puede llevar a proliferación y crecimiento de hongos en el cuello de la planta.

En segundo lugar, el suelo, las plantas de frijol caupí o castilla se adaptan a una gran diversidad de tipos de suelos. Palomino (2015) sostiene que se adapta a suelos ligeros, arcillosos, limosos. Camarena (1994) afirma que el frijol castilla o caupí es una planta que se adapta a una variedad de tipos de suelos y que puede tolerar la acidez (5.5 a 6.6), sin embargo, no la alcalinidad o salinidad. En el experimento se trabajó con un suelo arcilloso y se obtuvo buenos resultados a pH

5.5. Sin embargo, es recomendable realizar experimentos con diversos tipos de suelos y observar como hay una influencia en la biofertilización.

En tercer lugar, debemos considerar el abastecimiento de agua, debido a que el frijol castilla es susceptible al estrés por humedad como a varias horas de saturación de agua en el suelo. Los cuales retardan el crecimiento de las raíces y la fijación de nitrógeno de parte de las bacterias. En nuestro experimento, realizamos riegos cada tres días, debido a que había retención de humedad no hubo dificultad con el crecimiento de las plantas.

Por otro lado, es necesario considerar que el Ministerio del Ambiente, a través de este y diversos proyectos de investigación, considere esta una alternativa viable de aplicación. Así mismo, los biofertilizantes son productos biológico, que está considerado por la Cumbre de las Naciones Unidas, como una alternativa a la fertilización contaminante de suelos. En el marco de una agricultura sostenible, la biofertilización es una opción válida, comprobada científicamente en varios investigadores en diversos países de Latinoamérica, tales como Brasil, Argentina, Chile, México, España (Hungría y col, 2016). En estos países se aplica para el beneficio de las plantas, el suelo, el ambiente y la agricultura. Además, de generar un menor costo de producción para diversos cultivos, lo cual será en beneficio del agricultor. Así mismo, las cepas de *Azotobacter*, también tienen la capacidad de formar bioplásticos, los cuales son biodegradables y pueden considerarse para futuros estudios de la bacteria, con lo cual se lograría reducir el uso de plásticos contaminantes y que se acumulan en el ambiente.

En base a estudios de caracterización y de la Biología molecular de las bacterias fijadoras de nitrógeno, sus potencialidades como promotor de crecimiento vegetal, solubilizador de fosfato, antagonismo frente a hongos para diversos cultivos. Actualmente, aún es un gran reto para la comunidad científica conocer estas características de las bacterias, debido a que el ambiente repercute en las mismas, el cambio climático, los eventos del fenómeno del niño, deterioro de los suelos agrícolas. Por este motivo, estos saberes previos serán de gran utilidad,

para conocer más a las características de las bacterias, los aspectos técnicos y científicos de las mismas para lograr una aplicación más intensiva. Los beneficios directos de los biofertilizantes son: la reducción del uso de agroquímicos, pesticidas e insecticidas, mejor calidad del suelo, no contaminan el ambiente. Los beneficios indirectos: menor contaminación atmosférica, por la reducción del uso de los fertilizantes químicos nitrogenados, menor costo de producción, conservación de la diversidad biológica del suelo.

Así también, el beneficio más importante es su impacto social, de forma positiva, debido que el agricultor o empresa agroexportadora, con los resultados de la presente investigación sobre bacterias promotores de crecimiento y a la vez fijadoras de nitrógeno, es una evidencia científica de los efectos benéficos de los mismos a escala pequeña pero que tiene potencial de aplicación en campo.

La utilización de esta alternativa biotecnología, de buena calidad, de bajo costo, fácil aplicación ofrece una visión novedosa y de alcance para diversos sectores agrícolas y de aplicación para diversos cultivos de interés nacional y con fines de exportación. La mejora en el crecimiento en las plantas y por ende la producción, logrando así contribuir con el ambiente y fomentar una agricultura sostenible. La cual considera el impacto social, económico y ecológico viable y factible.

CONCLUSIONES

- En base a las evaluaciones microscópicas, características morfológicas Winogradsky y procedimientos de tinción podemos afirmar que las cepas estudiadas corresponden a bacterias *Azotobacter sp*, con cualidades de una bacteria *Azotobacter chroococum* una especie muy característica de los suelos agrícolas. Además, las características de la cepa Rizo aisl-1, de acuerdo a las características evaluadas en LMA (Levadura-Manitol Agar) son muy similares a la cepa Rizo E10 (control) y se trataría de una cepa de *Rhizobium sp*.
- En el experimento en bandejas con semillas del frijol caupi, el tratamiento con *Azotobacter* tuvo un buen porcentaje de germinación 80(%) superior al agua 66% a las 48h de evaluación. Además, el mismo tratamiento tuvo un buen crecimiento de la parte aérea y de la raíz, luego de 18 días de evaluación en las bandejas.
- A los 18 días de evaluación en las bandejas, con frijol caupí, la mayor biomasa fresca fue de Rizo E10, con 46g de fresca en comparación con el agua 37g y el N+ 45g. Además, al evaluar la materia seca esta misma cepa obtuvo una materia seca de 6.48g, la cual fue mayor al control con agua 6.26g.
- En experimento de la germinación del tarwi, el tratamiento solo con *Azotobacter* tuvo un porcentaje de germinación, 52% mayor al tratamiento solo con agua 36% y solo con nitrógeno (N+) 34% a las 48h. Además, el tratamiento solo con *Azotobacter* tuvo un 70% de germinación, mayor al tratamiento solo con agua 42% y al N+ 48% a las 72h. A los 20 días, el tratamiento con la cepa Rizo aisl-1, tuvo el mayor crecimiento de la parte aérea y radicular; registró una biomasa fresca de 87.16g, superior al tratamiento control N+ (KNO₃), con 83.30g y al agua 74.18g. Además, el valor de la biomasa seca de Rizo aisl-1 fue de 9.0860g, el cual fue superior a 7.3346g del agua y 7.4808g de nitrato de potasio.

- En el experimento en invernadero, con las plántulas de caupí, se observó un mejor crecimiento de las plántulas inoculadas con las cepas Rizo E10 seguida de la cepa Rizo aisl-1 en la LPA y biomasa fresca en comparación con el N+. En el ensayo con tarwi, en el invernadero, hubo diferencias significativas entre en el parámetro longitud de raíz y el peso fresco de raíz del tratamiento con *Azotobacter* en comparación con el agua. Así como el peso seco de raíz del tratamiento con *Azotobacter* en comparación con el N'+ con un nivel de confianza del 95%.
- La aplicación del biofertilizante constituido por solo *Azotobacter* o solo con Rizo-1, en forma individual son una alternativa que genera menos costo al agricultor, menos daño ambiental, ecoamigable con el ambiente y puede ser aplicado para el caso del frijol caupí. Para el caso del cultivo de tarwi también se puede recomendar el biofertilizante en base a *Azotobacter* o un biofertilizante en base al tratamiento en consorcio bacteriano Rizo E10 + Azoto.
- La utilización de los invernaderos para fines de investigación, son una alternativa económica y viable para la elaboración de diversos experimentos relacionados a la fertilización química, control biológico y pruebas de antagonismo y fitopatógenos. Las condiciones climáticas mínimas para el mismo son una adecuado de los vectores (insectos) a través de mallas antiáfidas. Además, manejo de la humedad (60-70%), la temperatura depende del cultivo varía para las leguminosas (20-30°C). En estos espacios también podemos realizar estudios de efecto de los contaminantes ambientales en las plantas. Los cuales pueden instalarse en las universidades a nivel nacional con fines de investigación.

RECOMENDACIONES

- Estandarizar la metodología de aplicación de biofertilizantes para diversos cultivos, por medio de la siembra en condiciones de invernadero y en laboratorio para hortalizas, gramíneas, pastos y otros cultivos andinos.
- Desarrollar nuevas investigaciones sobre el cultivo continuo o en Bach de los biofertilizantes, enfatizando su conservación del inoculante, mejorar los parámetros de crecimiento para su aplicación constante en campos de cultivo o a nivel empresarial.
- Integrar el conocimiento de las bacterias rizosféricas, fijadoras de nitrógeno como es el caso de *Rhizobium* y de fijadoras de N₂ libres, como es el caso de *Azotobacter*, considerados promotores de crecimiento vegetal, con la finalidad su sumar esfuerzos institucionales, de diversas universidades para la conservación de este valioso germoplasma bacteriano.
- Promover la difusión de su uso y potencialidades de los biofertilizantes en el Ministerio del ambiente, para la aplicación de los biofertilizantes para la mejora de la calidad del suelo, protección de la diversidad microbiana, con fines de biorremediación. Así como, el uso adecuado, estudio y aplicación de las bacterias para diversos tipos de suelos.
- Elaborar un registro de campo, similar a una cadena de custodia para registrar todos los datos de campo. Esta información será muy valiosa cuando se desea saber qué factores pudieron influenciar en la biofertilización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguado, G. (2012) Introducción al uso y manejo de los fertilizantes en la agricultura. México. INIFAP/SAGARPA. México; pp 1-19.

Aguilar, L. (2015).Evaluación del rendimiento en grano y capacidad simbiótica de once accesiones de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet), bajo condiciones de Otuzco-La libertad. Tesis para Optar el título de Ingeniero Agrónomo.

Aguirre, P. (2009).Caracterización Nutricional del grano de *Vigna unguiculata* L. en ratas. Tesis para optar el título de Magister en Ciencias Agrarias Área de Producción Animal Tropical. Universidad Nacional de Colombia. Escuela de Posgrados. Colombia.

Alban, M. (2012). Manual de cultivo del frijol Caupí. Documento elaborado por la Asociación de Productores Agropecuarios del Distrito de Morropón y el Proyecto Norte Emprendedor. Piura- Perú.

Allan, D. y Graham, P. (2002). Soil 5611: Soil Biology and Fertility: Symbiotic Nitrogen Fixation, other N₂-fixing symbiosis. Dep. of soil, water, and climate. University of Minesota.

Anjun et al (2016). Microbial production of polihidroxicamnoatos (PHAs) and its copoymers: A review of recent advancements.International Journal of Biological macromolecules 89(2016)161-174.

Antoun, H. & Prevost, D. (2005). Ecology of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Biocontrol y Biofertilización. Pgs1-38.

Ascon-Bieto, J y Talon, M. (2013).Fundamentos de fisiología vegetal. Segunda edición. Editorial Mc Graw-Hill. Interamericana.

Babu, S., Prasanna, R., Bidyarani, N., Nain, L. (2015). Synergistic action of PGP agents and Rhizobium spp. for improved plant growth nutrient mobilization and yields in different leguminous crops. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*.

Baca, B., Soto, L. y Prado, P. (2000) Fijación Biológica de Nitrógeno. Ciencia y cultura elementos. Versión impresa. Puebla, México. Pgs 43-49.

Bonilla, R. 2013. Investigación aplicada en *Azotobacter* sp. Dirigida a la promoción de crecimiento en cultivos de interés económica en Colombia. Libro *Rizósfera, Biodiversidad y Agricultura sustentable*. Pgs 151-165.

Brutti, L. , Beltrán, M. García de Salamone, I. (2018). Biorremediación de los recursos naturales. INTA ediciones. Argentina. Pgs 206-220.

Calvo, P., Reymundo, L. y Zúñiga, D. (2008). Estudio de las poblaciones microbianas de la rizósfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en las zonas altoandinas. *Ecología Aplicada*. 7: 141-148.

Camarena, F.; Huaranga, A.; Mostacero, E.; Chiappe, I. 1994. Manual del Cultivo de Frijol Castilla (*Vigna unguiculata* L. Walp). Programa de Investigación Social de Leguminosas de Grano y Oleaginosas. La Molina, Lima - Perú. 2 - 23 pp.

Camarena, F., Huaranga, A. Jiménez, J. Mostacero, E. 2012. Revaloración de un cultivo subutilizado: Chocho o Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet). Segunda Edición. Ediciones AGRUM. Programa de Investigación Social de Leguminosas de Grano y Oleaginosas Universidad Nacional Agraria La Molina. Pgs 104-107.

Cardona (1998). Bacterias de vida libre fijadoras de N₂ en dos suelos del valle de Cauca. *Acta agronómica* Vol 48. N° 3/4.

Casanova, E. (2004). Agricultura sostenible y fertilidad de suelos. Instituto de Edafología de la Facultad de agronomía de la Universidad Central de Venezuela. Revista Agricultura sostenible. Pág 18-35.

Cazalas, R. Ošlejškova, L., Matsuoka N., Brown M.(2004). Agricultural fertilizers as freshwater pollutants Principle, Problems, Restoration and Management.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 1987. Simbiosis Leguminosa – Rizobio. Manual de Métodos de Evaluación, Selección y Manejo Agronómico. Colombia. Editado por Rosemay Sylvester- Bradley.1-25

Constantino, M., Gómez- Álvarez, J., Álvarez-Solis, J.D.(2010) Efecto de la biofertilización y los reguladores en la germinación y el crecimiento de Carica papaya. Revista Colomb Biotechnol. Vol,XII N°2, Diciembre, 103-115

Corbalán y col (2006). Reunión Latinoamericana de Rhizobiología. XXVII. Libro de resúmenes. Loderina. Brasil.

Dash, S & Gupta, N. (2010). Microbial bioinoculants and their role in plant growth and development. International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research. 2(13): 232-251. India.

De Ron, A. La judía común: un caso de evolución global de un cultivo más allá de sus áreas de origen. Biodiversidad y genética. Pgs 31-34.

Dev A., Babu, R., Marahatta, S (2015). Role of Azotobacter in Soil fertility and Sustainability-An Review. Advances in Plant& Agriculture Research.

Escobar, J. (2002). Documento de la División de Recursos Naturales e Infraestructura de la CEPAL. Santiago de Chile.

Gomez, J. (2010). Las especies de *Lupinus L.* (Fabaceae) y sus simbioses en el distrito de Corongo-Ancash. Tesis para obtener el grado académico de Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.

Gonzales, E. (2013). Estudio de la diversidad de cepas de *Rhizobium* provenientes de nódulos de tres variedades de frijol común (*P. vulgaris L.*). Tesis para optar el Título de Biólogo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.

González, M. (2000). Efecto de un inoculante microbiano a partir de cepas nativas de *Azotobacter chroococum* sobre el rendimiento en secuencias de cultivos hortícolas. Tesis para optar el grado de Máster en fertilidad de suelos. Universidad de Camagüey. Instituto de Suelos.

Gothandapani, S., Sekar, S., Padaria, J. (2017). *Azotobacter chroococum*: Utilization and potential use for agricultural crop production: An overview. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences. 4(3) 35-42. India.

EPA (Environmental Protection Agency) (2016). Environment and Agriculture. online: http://www.epa.ie/media/Chapter12_Environment_Agriculture.pdf

Escobar, J. (2002). La contaminación de los ríos y sus efectos. Documento de la División de Recursos Naturales e Infraestructura de la CEPAL. Santiago de Chile.

Hernández, M. y Chailoux, M. (2001). La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Temas de ciencia y tecnología Vol 5. pp11-27.

Höflich, G. Wihhw, W. Kühn (1995). Plant Growth stimulation by Inoculation with symbiotic and associative rhizosphere microorganisms. Experientia (1994) Birkhauser Verlag Basel. Switzerland.Germany.

Hungría, M., Andrade, D., Chueire, L., Probanza, A., Gutierrez-Mañero, F., and Megías, M. (2000). Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brasil. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1515-1528.

Hungría, M., Gomez, D. Filho, A. (2006). Biofertilizantes una visión técnica, científica y empresaria. Red Biofag. Lodrina. Brasil.

Hungría, M., Gomez, D. Filho, A. (2016). Reunión Latinoamericana de Rhizobiología XXVII.. Libro de resúmenes. Lodrina. Brasil.

Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) (2011). Perú, estadísticas anuales ambientales.

Izaguirre-Mayoral, M., Labandera, C. y Sanjuán, J.(2007). Biofertilizantes de Latinoamérica. Una visión técnica, científica y empresarial.

Jacobsen, S. y Mujica, A. El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweer.) y sus parientes silvestres. Botánica Económica de los andes Centrales. Editores: M. Morales., B.Ollgaard, L. P. Kvist, Borchsenius & H. Balslev. Universidad Mayor de San Andrés. 2006: 458-482.

Jiménez, D. (2007).Caracterización molecular de cepas nativas colombianas de *Azotobacter* spp. Mediante el análisis de restricción del DNA ribosomal 16s. Colombia. Tesis para optar el título de Microbiólogo Industrial.

Jnawalli, A. Bubu, R. y Marahatta, S. (2015). Role of Azotobacter in Soil fertility and sustentabiliy-A review. *Advances in Plants & Agriculture Research*, 2[6]:0069.

Kennedy, C., Rudnick, P., Mc Donald, M., & Melton, T. 2005. Genus III. *Azotobacter* Beijerinck., 567AL. En: Bergey.. *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*. Brenner, J. Ed. Springer. New-York, USA. pp. 384 –402.

Kloepper, J., Zablotowics, R., Tippin, E. and Lifshitz, R. (1991). Plant growth mediated by bacterial rhizosphere colonizers. *The rhizosphere and plant growth*. 315-326.

León, J. 1987. Botánica de los Cultivos Tropicales. IICA. 2da. Edición. San José, Costa Rica. Pág. 263- 2

León, J. Quillama, E, Huamán, M. (2017). Manual de prácticas de Bacteriología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Lima.

Madigan, M. (2012). Biología de los microorganismos. Décima edición. Editorial Pearson Prentic Hall.

Marco (2002). Contaminación global por nitrógeno y declive de anfibios. Revista Experimental de Herpetología. 97-109.

Marquina, M.E., González, N. E. & Castro, Y. (2011). Caracterización fenotípica de doce rizobios aislados de diversas regiones geográficas de Venezuela. Revista de Biología Tropical. 59(3):1017-1036.

Martínez, Y, Uku, S y Albiac, J. (2002). El Control de la Contaminación por Nitratos en el Regadío. Servicio de Investigación Agroalimentaria. Zaragoza *Economía Agraria y Recursos Naturales*, ISSN: 1578-0732, Vol. 2, 2, pp.115-131.

Matsubara, M. (2010). Diversidad fenotípica y molecular de bacterias simbióticas del cultivo de pallar (*Phaseouls lunatus*) en el Valle de Supe-Barranca. Tesis para optar el Título de Biólogo. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima-Perú.

Mayo, J y Hernández, J. 2002. Infectividad y efectividad de cepas nativas de rizobios aislados de la provincia de Ica en *P. lunatus* (pallar) var. 'Criollo Iqueño' y var. Sieva. Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica. Tesis para optar los Títulos de Biólogos.

Ministerio de Agricultura y Riego (2018). Series estadísticas agrarias. On line: <http://frenteweb.minagri.gob.pe/sisca/>

Mohammadi, K. & Sohrabi, Y. (2012). Bacterial biofertilizers for sustentable crop production: A review. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science. Vol 7: N°5.

Mora (1995). Selección de cepas nativas de *Rhizobium leguminosarum bv phaseoli* eficientes en la fijación biológica de nitrógeno en suelos de Costa Rica. Agronomía Mesoamericana 6.68-74.

Muñoz, JSC, Benavides ACM. Fertilización biológica: técnicas de vanguardia para el desarrollo agrícola sostenible. Producción más limpia. 2010: 5(2):1-20.

Núñez, D. (2009). Empleo de biofertilizantes en el contexto de la agricultura sostenible como alternativa de la nutrición de las plantas. Monografía. Universidad de Matanzas Cuba..

Paima, R. 2005. Evaluación de una cepa nativa de *Rhizobium sp.* Inoculada en frijol común (*Phaseolus vulgaris*) y la interacción con la materia orgánica y microelementos. Tesis para Optar el Título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Pgs 72-77.

Palomo, M., Martínez, G., Figueroa, U. (2007). Desarrollo Sustentable de los Recursos Naturales al disminuir riesgos de contaminación en actividades agropecuarias.

Palomino, P. (2015). Fenología e influencia térmica en Pallar bebé (*Phaseolus lunatus* L.) y frijol castilla(*Vigna unguiculata* L. Walp) en diferentes épocas de siembra en La Molina. Tesis para optar el título de Ing. Agrónoma. UNALM.

Parada y col (2006). Biofertilizantes de Latinoamérica. Una visión técnica, científica y empresarial.

Porter, E. (2000). El nitrógeno en la Lluvia Nacional. Dirección de pesca. Documento de la NADP EEUU.

Raja, P. Huma, H. Govindarajan K (2006). Impact of bio inoculants consorcium on Rice Root exudates, Biological Nitrogen Fixation and Plant Growth. Journal of Biological Science.6:5 815-823.

Ramirez, F. (2018). Curso de Fertilidad del suelo. Universidad Nacional Agraria La Mollina. Material de clase del curso.

Rico, M. (2009).Capacidad promotora de crecimiento vegetal por bacterias del género *Azotobacter* y Actinomicetos aislados de cultivos de *Solanum tuberosum* Linnaeus 1753(Papa) cultivas en zonas altoandinas del Perú. Tesis para optar el Título de Biólogo en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.

Rinaudi, L. (2010). An integrated view of biofilms formation in rhizobia. FEMS Microbiology Letters. 304:1-11.

Rivas, R., García-Fraile, P. & Velázquez E. 2009. Taxonomy of Bacteria Nodulating Legumes. Microbiology Insights. 2: 51–69.

Rodriguez, A. (2009). Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de los alcaloides del agua de cocción del proceso de desamargado del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet). Tesis de Grado para la obtención del título de Bioquímico farmacéutico. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Rodríguez, J. Ríos, Y. y Baró, Y. (2016). Efectividad de cepas de *Azotobacter* sp y *Bacillus* sp para el control de especies fúngicas asociadas a hortalizas. *Cultivo tropicales*, vol 37, pp13-19.

Rubio, J. E. (2013). Caracterización molecular de bacterias del género *Azotobacter* aisladas de suelos de la República Argentina. El rol de las auxinas en la respuesta a la inoculación del trigo. Tesis para optar el grado de Magister de la Universidad de Buenos Aires.

Sanchez-Yáñez, J. López, I. Villegas, J. y Montaña, N. (2014). Respuesta del maíz (*Zea mays* L) a la inoculación con *Azotobacter* y *Burkholderia* sp a dosis reducida de fertilizante nitrogenado. *Scientia Agropecuaria* 5(2014) 17-23.

Santillana, N. (2007). Caracterización de cepas de *Rhizobium* aisladas de *Vicia Faba* y *Pisum sativum* var. *Macrocarpum*. Tesis Doctoral. Programa Doctoral en Ciencias Biológicas e Ingeniería Biológica de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Savik, S. (2012). An Agricultural Pollutant: Chemical Fertilizer *International Journal of Environmental Science and Development*, Vol. 3, No. 1, February.

Teixeira, A., Adriano, R., Da Rocha, A.(2017). Water and Salt Stresses on germination of cowpea (*Vigna unguiculata* cv BRS Tumucumaque) SEEDS. *Rev. Caatinga, Mossoró*, v.30, n 4, p. 1009-1016.

Tórtora, G. Funke, B, Case C. (2007). Introducción a la microbiología. Editorial Médica Panamericana. Argentina.

Trujillo, A . Palacios, A. Zamora, S. Ortega, R. Villavicencio, J. Efecto de la competencia intraespecífica en el crecimiento y producción de Yorimón (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Interciencia* Mayo 2016, Vol 41 N°5.

USIL (Universidad San Ignacio de Loyola). Guía de la Práctica 2 de Laboratorio Tinción de GRAM. Manual de Laboratorio de Microbiología. Lima. 2017.

Yepis, O., fundora, O., Pereira, C. y Crespo, T. (1999) La contaminación ambiental por el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados en el cultivo del tomate *Scientia Gerundensis*..24: 5-12.

Velazquez, H. (2007). Interacción entre *Bradyrhizobium* y micorrizas vesículo arbusculares en el rendimiento de pallar(*Phaseolus lunatus* L.) cultigrupo Sieva. UNALM-2. Tesis para optar el Título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.

Verma, J. P., Yadav, J., Tiwari K. N., Lavakush & Singh, V. (2010). Impact of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Crop Production. International Journal of Agricultural Research. 5(11):954-983. India.

Wang, T. y Martínez-Romero, J. 2002. Taxonomía de *Rhizobium*. Departamento de Microbiología Agrícola de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de México (UNAM).

Zúñiga, D. (2006). Biofertilizantes una visión técnica, científica y empresaria. Red Biofag. Lodrina. Brasil.

Zúñiga, D. (2013). Manual de Microbiología Agrícola. *Rhizobium*, PGPRs, indicadores de fertilidad e inocuidad. Ed. Olaya M. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.

ANEXO I. FLUJOGRAMA DE LA METODOLOGÍA EXPERIMENTAL



ANEXO II. MEDIOS DE CULTIVO

1.-Medio Levadura Manitol Agar (LMA)

COMPOSICIÓN	Cantidad
Manitol	10.00g
Extracto de levadura	0.5 g
K ₂ HPO ₄	0.5g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.10g
NaCl	0.20g
Agar	15.0g
Agua destilada	1000 mL
Colorantes*	
pH	6.8

*Rojo congo al 0.0025% 10 mL/L de LMA
Azul de bromotimol 0.5% en alcohol de 70°C 5 mL/L de LMA

Fuente: Zúñiga(2012)

2.-Medio Winogradsky

COMPOSICIÓN	g/l
KH ₂ PO ₄	0.25
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.125
NaCl	0.125
Na ₂ Mo.5H ₂ O	0.005
MnSO ₄ .4H ₂ O	0.005
CaCO ₃	0.1
Glucosa	10
Agar	15

pH: 7/+0.2 Fuente: Jiménez (2007)

2.-Medio C (Medio formulado para *Azotobacter* y *Rhizobium*)

COMPOSICIÓN	g/l
Manitol	6
Glucosa	6
Extracto de levadura	0.5
K ₂ HPO ₄	0.5
NaCl	0.20
Na ₂ Mo.5H ₂ O	0.005
MnSO ₄ .4H ₂ O	0.005
CaCO ₃	0.1
Agar	15
Agua	1L

pH: 7/+0.2

3. Reactivo de Leifson

SOLUCIÓN A	Cantidades
Fucsina básica.....	1.2g
Etanol de 95°.....	100mL

SOLUCIÓN B	Cantidades
Ácido tánico.....	3g
Agua destilada.....	100mL

SOLUCIÓN C	Cantidades
Cloruro de sodio.....	1.5g
Agua destilada.....	100mL

Nota: Para preparar la solución de uso, se mezclan cantidades iguales de las soluciones A, B y C y se guarda en frasco cerrado herméticamente en la nevera donde es estable durante varias semanas.

ANEXO III. ANALISIS ESTADÍSTICO EN SPSS

I.-Evaluación estadística de las macetas a los cinco días, frijol caupí

a) Estadística descriptiva de la longitud de la parte aérea (LPA)

Descriptivos

CINCO DÍAS

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
" RIZO AIS-1"	13	2,6077	,56636	,15708	2,2654	2,9499	1,10	3,10
"RIZO E10"	13	1,4615	,51565	,14302	1,1499	1,7731	,90	2,80
" AZOTO"	16	1,8313	,84988	,21247	1,3784	2,2841	,30	3,10
"RIZO E10+AZOTO"	13	1,6154	,89242	,24751	1,0761	2,1547	,90	4,00
"RIZO AISL-1+AZOTO"	17	1,4824	,87338	,21183	1,0333	1,9314	,30	3,50
" AGUA"	13	1,6962	,65653	,18209	1,2994	2,0929	1,00	2,90
"N+"	14	1,7964	,76169	,20357	1,3566	2,2362	1,00	3,50
Total	99	1,7737	,81169	,08158	1,6118	1,9356	,30	4,00

b) Test de normalidad de los datos LPA

Pruebas de normalidad

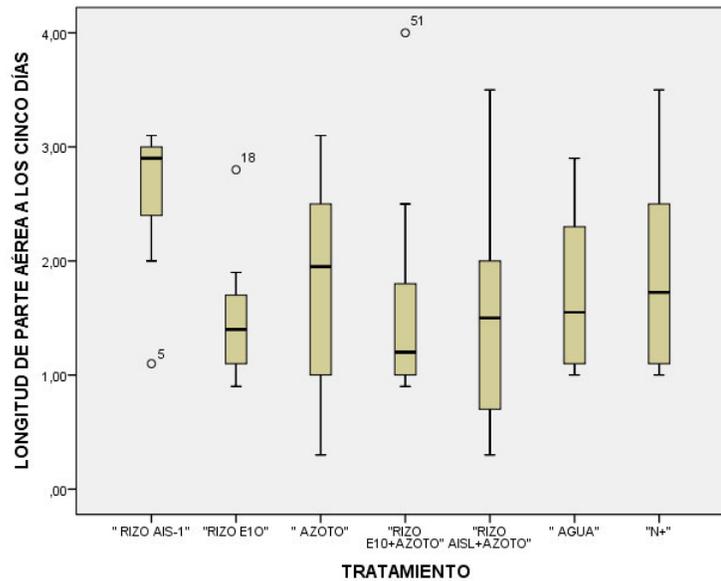
TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
" RIZO AIS-1"	,236	13	,047	,781	13	,004
"RIZO E10"	,163	13	,200*	,871	13	,055
" AZOTO"	,148	16	,200*	,949	16	,473
"RIZO E10+AZOTO"	,218	13	,093	,774	13	,003
"RIZO AISL+AZOTO"	,155	17	,200*	,919	17	,140
" AGUA"	,174	13	,200*	,896	13	,118
"N+"	,177	14	,200*	,890	14	,080

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Interpretación: En la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov, con muestras para todo tipo de cantidad de muestras, podemos afirmar que si el valor de significancia sig. >0.05. Se acepta la normalidad de los datos de cada tratamiento. En el caso de Shapiro-Wilk, si el sig >0.05. Se acepta la normalidad de los datos de cada tratamiento.

c) Diagrama de cajas para evaluar la normalidad de los datos de LPA



Interpretación: Al observar la gráfica podemos concluir que hay una cercanía a la media y los datos siguen una distribución normal en la mayoría de los tratamientos. Solo en el caso del tratamiento consorcio bacteriano “rizo E10 y azoto” si hubo datos que se alejaban de la media.

d) Análisis de varianza del LPA

ANOVA

EVALUACION A LOS CINCO DIAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	12,216	6	2,036	3,578	,003
Dentro de grupos	52,351	92	,569		
Total	64,567	98			

Interpretación: Al observar el valor de la sig., el cual es 0.03. Como el p valor o valor de significancia es menor a 0.05 entonces se acepta la hipótesis que hay variación entre los grupos analizados o hay diferencias significativas en cada grupo. Por lo tanto se continúa realizando la prueba de Análisis de Rasgos Múltiples o Tukey o de Fisher.

II.-Evaluación estadística de las macetas a los diez días en SPSS

a) Estadística descriptiva de la longitud de la parte aérea (LPA)

Descriptivos								
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
RIZO AIS-1	15	8,8467	1,33356	,34432	8,1082	9,5852	5,50	10,60
RIZO E10	13	7,5077	,64091	,17776	7,1204	7,8950	6,20	8,00
AZOTO	14	8,5000	1,31792	,35223	7,7391	9,2609	5,50	10,40
RIZO E10+AZOTO	14	8,5429	1,32764	,35483	7,7763	9,3094	5,50	10,40
RIZO AISL-1+AZOTO	17	6,9235	2,42372	,58784	5,6774	8,1697	2,30	10,00
AGUA	15	8,3200	1,90008	,49060	7,2678	9,3722	3,50	10,50
N+	13	7,4308	2,27939	,63219	6,0533	8,8082	4,00	10,50
Total	101	8,0000	1,81433	,18053	7,6418	8,3582	2,30	10,60

Interpretación: En la tabla se puede apreciar que los tratamientos que mejor longitud de parte aérea fueron los tratamientos con Rizo aisl-1 con una media de 8.8467 cm y en segundo lugar el tratamiento con la cepa Azotobacter.

b) Test de normalidad de los datos LPA

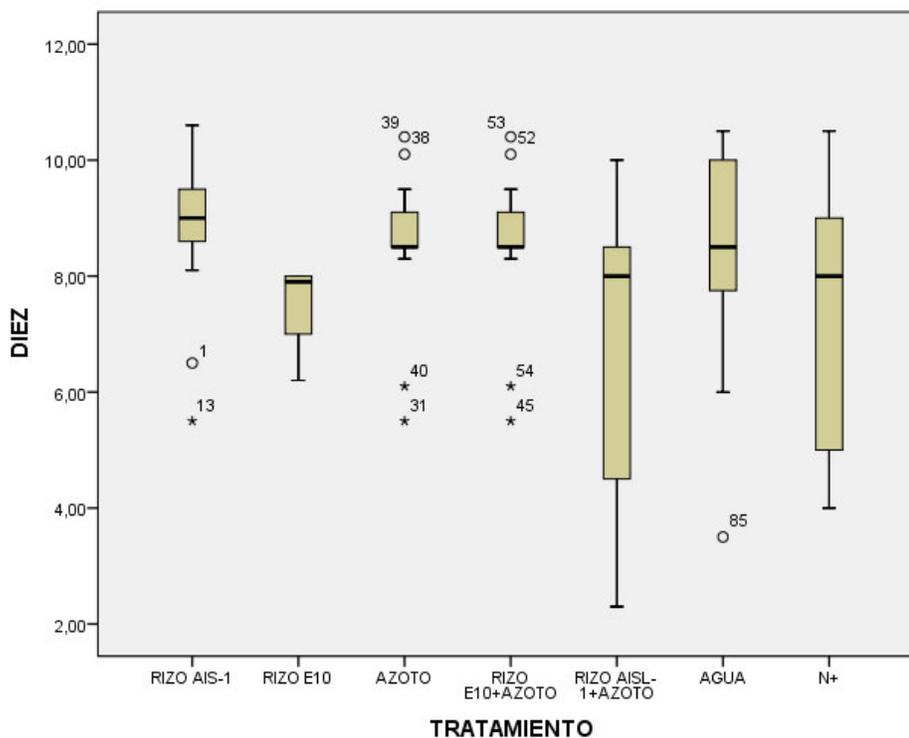
Pruebas de normalidad							
TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.	
DIEZ RIZO AIS-1	,197	15	,120	,864	15	,027	
RIZO E10	,268	13	,011	,786	13	,005	
AZOTO	,297	14	,002	,844	14	,018	
RIZO E10+AZOTO	,285	14	,003	,850	14	,023	
RIZO AISL-1+AZOTO	,201	17	,067	,902	17	,074	
AGUA	,166	15	,200*	,886	15	,057	
N+	,165	13	,200*	,908	13	,174	

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Interpretación: En la prueba estadística de Shapiro-Wilk, con muestras menores a 50, podemos afirmar que si el valor de significancia es >0.05 . Se acepta la normalidad de los datos de cada tratamiento. Se concluye que existe normalidad en los datos analizados.

c) Diagrama de cajas para evaluar la normalidad de los datos, LPA



Interpretación: Al observar la gráfica podemos concluir que hay una cercanía a la media, línea central de cada caja. Por lo tanto podemos afirmar que los datos siguen una distribución normal en la mayoría de los tratamientos.

d) Análisis de varianza del LPA

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	46,977	6	7,829	2,608	,022
Dentro de grupos	282,203	94	3,002		
Total	329,180	100			

Interpretación: Al observar el valor de la sig., el cual es 0.22. Como el p valor o valor de significancia es mayor a 0.05, se rechaza la hipótesis de variación de los datos. Entonces se analizaría no habría diferencias entre los tratamientos analizados a los quince días de evaluación

III.-Evaluación estadística de las macetas a los quince días en SPSS

a) Estadística descriptiva de la longitud de la parte aérea (LPA)

Descriptivos

QUINCE

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
RIZO-1	16	10,9438	1,52576	,38144	10,1307	11,7568	7,40	13,00
RIZO E10	14	9,9786	,79921	,21360	9,5171	10,4400	8,50	11,00
AZOTO	15	11,3600	,99341	,25650	10,8099	11,9101	9,00	12,90
RIZO E10+AZOTO	15	9,6800	2,64742	,68356	8,2139	11,1461	2,00	13,00
RIZO AISL-1+AZOTO	17	9,6941	2,71511	,65851	8,2981	11,0901	4,00	13,50
AGUA	13	10,3308	2,04507	,56720	9,0949	11,5666	7,20	13,00
N+	13	9,2462	2,92991	,81261	7,4756	11,0167	1,00	12,60
Total	103	10,1913	2,16134	,21296	9,7689	10,6137	1,00	13,50

b) Test de normalidad de los datos LPA

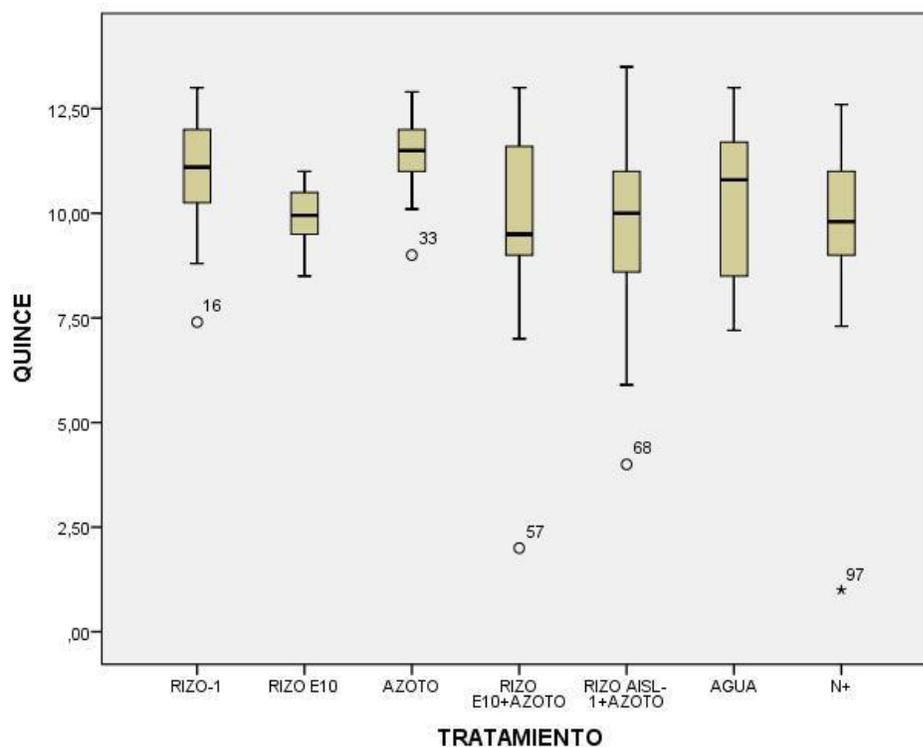
Pruebas de normalidad

QUINCE	TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
	RIZO-1	,202	16	,079	,933	16	,276
	RIZO E10	,172	14	,200*	,938	14	,395
	AZOTO	,159	15	,200*	,944	15	,432
	RIZO E10+AZOTO	,265	15	,006	,836	15	,011
	RIZO AISL-1+AZOTO	,177	17	,160	,944	17	,374
	AGUA	,144	13	,200*	,920	13	,248
	N+	,236	13	,047	,822	13	,013

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

c) Diagrama de cajas para evaluar la normalidad de los datos, LPA



Interpretación: Al observar la gráfica podemos concluir que hay una cercanía a la media, línea central de cada caja. Por lo tanto podemos afirmar que los datos siguen una distribución normal en la mayoría de los tratamientos a los quince días de evaluación de los datos.

d) Análisis de varianza del LPA

ANOVA

QUINCE

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	50,170	6	8,362	1,883	,092
Dentro de grupos	426,312	96	4,441		
Total	476,482	102			

Interpretación: Al observar el valor de la sig., el cual es 0.092. Como el p valor o valor de significancia es mayor a 0.05. Por lo tanto no se acepta la hipótesis que existe variación en los datos.

IV.-Evaluación estadística de las macetas a los veinte días en SPSS

a) Estadística descriptiva de la longitud de la parte aérea (LPA)

Descriptivos

LPA20

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
RIZO AISL-1	16	12,1688	2,24550	,56138	10,9722	13,3653	6,20	15,10
RIZO E10	15	11,5600	1,00698	,26000	11,0024	12,1176	10,00	13,20
AZOTO	15	12,3133	2,34242	,60481	11,0161	13,6105	5,00	15,00
RIZOE10+AZOT	15	10,7133	2,39758	,61905	9,3856	12,0411	5,70	14,20
RIZO AISL-1+ AZOT	17	11,2294	2,05023	,49725	10,1753	12,2835	7,00	14,40
AGUA	15	11,6667	2,22090	,57343	10,4368	12,8966	8,00	14,80
N+	16	10,6000	3,65641	,91410	8,6516	12,5484	1,00	15,00
TOTAL	109	11,4587	2,40529	,23038	11,0021	11,9154	1,00	15,10

b) Test de normalidad de los datos LPA

Pruebas de normalidad

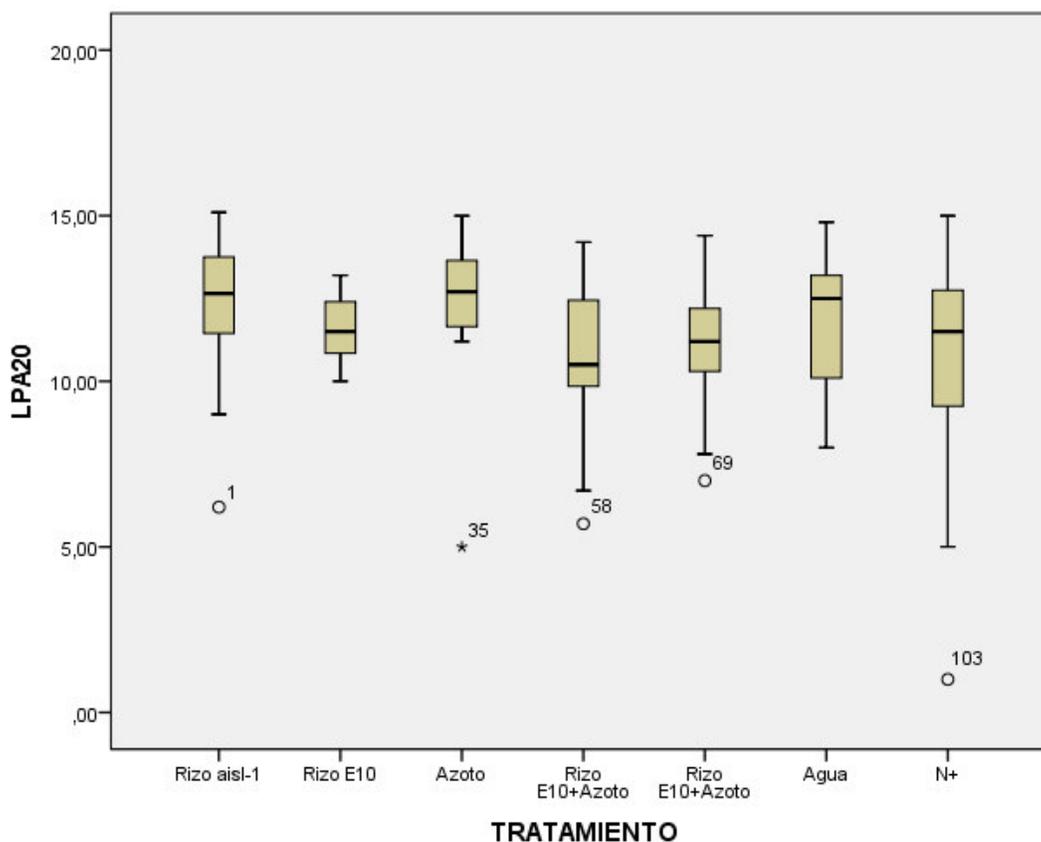
TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
LPA20 Rizo aisl-1	,202	16	,079	,901	16	,083
Rizo E10	,111	15	,200*	,962	15	,731
Azoto	,251	15	,012	,775	15	,002
Rizo E10+Azoto	,136	15	,200*	,951	15	,533
Rizo E10+Azoto	,103	17	,200*	,960	17	,640
Agua	,193	15	,140	,924	15	,219
N+	,169	16	,200*	,893	16	,062

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Interpretación: En la prueba estadística de Shapiro-Wilk, con muestras menores a 50, podemos afirmar que si el valor de significancia (sig.) es mayor a 0.05 (>0.05). Se acepta la normalidad de los datos de la mayor parte de los datos analizados.

c) Diagrama de cajas para evaluar la normalidad de los datos, LPA



Interpretación: Al observar la gráfica podemos concluir que hay una cercanía a la media, línea central de cada caja. Por lo tanto podemos afirmar que los datos siguen una distribución normal en la mayoría de los tratamientos a los veinte días de evaluación de los datos.

d) Análisis de varianza del LPA

ANOVA

LPA20

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	40,851	6	6,808	1,189	,318
Dentro de grupos	583,974	102	5,725		
Total	624,824	108			

Interpretación: Interpretación: Al observar el valor de la sig., el cual es 0.318. Como el p valor o valor de significancia es mayor a 0.05. Por lo tanto no se acepta la hipótesis que existe variación en los datos analizados a los 20 días de evaluación

V. Estadística descriptiva de la evaluación de las plantas de caupi a los 30 días de evaluación

TRATAMIENTO		Informe						GR.TALLO	BIO.FRESCA
		LPA	LR	PFPA	PFR	PSPA	PSR		
RIZO AISL-1	Media	15,4028	7,1722	1,8200	,3072	,18178	,02725	2,3000	6,2102
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	1,69884	1,61636	,23833	,04928	,045040	,006705	,26667	1,16885
	Mínimo	13,40	5,00	1,48	,25	,120	,018	2,00	4,74
	Máximo	18,27	9,30	2,20	,39	,259	,036	2,67	8,18
RIZO E10	Media	14,3667	6,2667	1,7453	,3147	,19533	,02920	2,5000	6,4120
	N	5	5	5	5	5	5	5	5
	Desviación estándar	1,59670	2,02128	,22912	,03176	,032236	,004194	,35355	,69507
	Mínimo	12,17	3,90	1,51	,27	,164	,023	2,17	5,68
	Máximo	15,83	9,43	2,13	,35	,236	,035	3,00	7,52
AZOTO	Media	15,9222	6,2139	1,9072	,3000	,16994	,02619	2,2778	5,6267
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	1,74313	1,40018	,19707	,09371	,029992	,008069	,34427	2,08045
	Mínimo	14,00	4,73	1,62	,19	,141	,010	2,00	1,82
	Máximo	19,00	8,60	2,17	,43	,217	,031	2,83	7,16
RIZO AISL-1+AZOTO	Media	13,4056	6,0611	1,6400	,3211	,16533	,03494	2,3889	6,1500
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	1,35227	1,56140	,31198	,08909	,034972	,012664	,20184	1,25122
	Mínimo	11,50	4,33	1,21	,23	,123	,022	2,00	4,66
	Máximo	15,10	8,83	1,97	,47	,223	,051	2,50	7,48
RIZO E10++AZOTO	Media	13,4056	7,2722	1,6611	,3483	,16061	,02956	2,3694	4,9800
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	2,04129	2,85279	,33593	,05616	,043547	,004599	,23580	1,14529
	Mínimo	11,00	2,20	1,20	,31	,097	,023	2,00	3,04
	Máximo	15,90	10,90	2,23	,46	,221	,033	2,67	6,00
AGUA	Media	14,1500	7,0194	1,5567	,2922	,16325	,02219	2,0574	5,0267
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	2,39961	2,91255	,60444	,06231	,041654	,006851	1,02575	2,28181
	Mínimo	10,50	2,00	,36	,24	,083	,011	,01	,72
	Máximo	16,90	10,60	1,95	,38	,193	,028	2,83	6,80
N+	Media	14,9361	6,5528	1,4783	,2665	,18604	,02668	2,2847	3,7081
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	1,25186	2,23090	,50479	,10080	,039511	,007680	,23336	2,71864
	Mínimo	12,50	3,00	,81	,13	,140	,014	2,00	2,08
	Máximo	16,00	8,63	1,90	,37	,244	,035	2,63	9,10
Total	Media	14,5163	6,6606	1,6855	,3070	,17411	,02797	2,3066	5,4212
	N	41	41	41	41	41	41	41	41
	Desviación estándar	1,86935	2,05046	,37531	,07228	,037650	,008069	,44986	1,86798
	Mínimo	10,50	2,00	,36	,13	,083	,010	,01	,72
	Máximo	19,00	10,90	2,23	,47	,259	,051	3,00	9,10

VI. Prueba de normalidad experimento en macetas de caupí a los 30 días

		Pruebas de normalidad					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	TRATAMIENTO	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
LPA	RIZO AISL-1	,189	6	,200*	,948	6	,727
	RIZO E10	,254	5	,200*	,887	5	,344
	AZOTO	,217	6	,200*	,916	6	,475
	RIZO AISL-1+AZOTO	,170	6	,200*	,962	6	,832
	RIZO E10++AZOTO	,182	6	,200*	,902	6	,387
	AGUA	,199	6	,200*	,956	6	,785
	N+	,385	6	,006	,759	6	,024
LR	RIZO AISL-1	,169	6	,200*	,972	6	,905
	RIZO E10	,254	5	,200*	,940	5	,665
	AZOTO	,227	6	,200*	,914	6	,464
	RIZO AISL-1+AZOTO	,225	6	,200*	,905	6	,403
	RIZO E10++AZOTO	,286	6	,136	,900	6	,373
	AGUA	,196	6	,200*	,950	6	,740
	N+	,220	6	,200*	,902	6	,387
PFPA	RIZO AISL-1	,171	6	,200*	,976	6	,927
	RIZO E10	,344	5	,053	,847	5	,185
	AZOTO	,272	6	,186	,932	6	,594
	RIZO AISL-1+AZOTO	,235	6	,200*	,891	6	,322
	RIZO E10++AZOTO	,252	6	,200*	,938	6	,647
	AGUA	,322	6	,051	,700	6	,006
	N+	,307	6	,080	,767	6	,029
PFR	RIZO AISL-1	,303	6	,089	,881	6	,272
	RIZO E10	,201	5	,200*	,966	5	,847
	AZOTO	,191	6	,200*	,924	6	,533
	RIZO AISL-1+AZOTO	,152	6	,200*	,943	6	,680
	RIZO E10++AZOTO	,321	6	,052	,677	6	,003
	AGUA	,244	6	,200*	,818	6	,086
	N+	,202	6	,200*	,894	6	,337
PSPA	RIZO AISL-1	,261	6	,200*	,924	6	,532
	RIZO E10	,226	5	,200*	,889	5	,352
	AZOTO	,240	6	,200*	,905	6	,405
	RIZO AISL-1+AZOTO	,155	6	,200*	,968	6	,882

	RIZO E10++AZOTO	,112	6	,200*	,996	6	,999
	AGUA	,281	6	,151	,758	6	,024
	N+	,227	6	,200*	,903	6	,390
PSR	RIZO AISL-1	,112	6	,200*	,993	6	,995
	RIZO E10	,218	5	,200*	,969	5	,869
	AZOTO	,389	6	,005	,654	6	,002
	RIZO AISL-1+AZOTO	,319	6	,057	,823	6	,094
	RIZO E10++AZOTO	,330	6	,039	,737	6	,015
	AGUA	,361	6	,014	,788	6	,046
	N+	,170	6	,200*	,945	6	,696
GR.TALLO	RIZO AISL-1	,203	6	,200*	,920	6	,506
	RIZO E10	,227	5	,200*	,910	5	,468
	AZOTO	,290	6	,125	,840	6	,131
	RIZO AISL-1+AZOTO	,376	6	,008	,666	6	,003
	RIZO E10++AZOTO	,210	6	,200*	,959	6	,816
	AGUA	,389	6	,005	,698	6	,006
	N+	,226	6	,200*	,928	6	,568
BIO.FRESC A	RIZO AISL-1	,216	6	,200*	,959	6	,812
	RIZO E10	,216	5	,200*	,927	5	,579
	AZOTO	,283	6	,146	,801	6	,059
	RIZO AISL-1+AZOTO	,216	6	,200*	,864	6	,205
	RIZO E10++AZOTO	,303	6	,090	,854	6	,169
	AGUA	,232	6	,200*	,806	6	,067
	N+	,317	6	,060	,683	6	,004

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Interpretación

En la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, con muestras menores a 50, podemos afirmar que si el valor de significancia es >0.05 . Se acepta la normalidad de los datos de cada tratamiento. Ahora podemos realizar el análisis de varianzas , ANOVA para cada variable.

VII. Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados de caupí a los 30 días

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
LPA	Entre grupos	33,354	6	5,559	1,776	,134
	Dentro de grupos	106,424	34	3,130		
	Total	139,779	40			
LR	Entre grupos	8,787	6	1,464	,312	,926
	Dentro de grupos	159,389	34	4,688		
	Total	168,176	40			
PFFA	Entre grupos	,794	6	,132	,930	,486
	Dentro de grupos	4,840	34	,142		
	Total	5,634	40			
PFR	Entre grupos	,023	6	,004	,708	,646
	Dentro de grupos	,186	34	,005		
	Total	,209	40			
PSPA	Entre grupos	,006	6	,001	,649	,691
	Dentro de grupos	,051	34	,001		
	Total	,057	40			
PSR	Entre grupos	,001	6	,000	1,505	,206
	Dentro de grupos	,002	34	,000		
	Total	,003	40			
GR.TALLO	Entre grupos	,632	6	,105	,480	,818
	Dentro de grupos	7,463	34	,219		
	Total	8,095	40			
BIO.FRESCA	Entre grupos	31,794	6	5,299	1,672	,158
	Dentro de grupos	107,779	34	3,170		
	Total	139,574	40			

Interpretación

Interpretación: Al observar el valor de la sig. o p valor en todos los casos es mayor a 0.05 entonces se acepta la hipótesis que hay no hay diferencias significativas en los grupos analizados. Sin embargo, se puede realizar la prueba de Duncan para observar diferencias significativas para cada parámetro analizado.

VIII. Análisis estadístico de rangos múltiples en STATGRAPHICS

Frijol caupí

Para realizar la prueba se realizó un cambio de la denominación de los tratamientos, se le asignó a cada tratamiento los siguientes valores:

Tratamientos	Valores en el Statgraphics	Número de repeticiones
Rizo aisl1	1	6
Rizo E10	2	6
Azoto	3	6
Rizo aisl-1+Azoto	4	6
Rizo E10+Azoto	5	6
Agua	6	6
Nitrato	7	6

Pruebas de Múltiple Rangos para LPA 5 DÍAS por TRATAMIENTOS

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
5	17	1.44706	X
2	13	1.56923	X
6	13	1.63462	X
4	13	1.7	X
3	16	1.76875	X
7	14	1.88929	X
1	12	2.625	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	1.05577	0.603441
1 - 3	*	0.85625	0.575646
1 - 4	*	0.925	0.603441
1 - 5	*	1.17794	0.568344
1 - 6	*	0.990385	0.603441
1 - 7	*	0.735714	0.593006
2 - 3		-0.199519	0.562852
2 - 4		-0.130769	0.591249
2 - 5		0.122172	0.555382
2 - 6		-0.0653846	0.591249
2 - 7		-0.320055	0.580595
3 - 4		0.06875	0.562852
3 - 5		0.321691	0.525049
3 - 6		0.134135	0.562852
3 - 7		-0.120536	0.55165
4 - 5		0.252941	0.555382
4 - 6		0.0653846	0.591249
4 - 7		-0.189286	0.580595
5 - 6		-0.187557	0.555382
5 - 7		-0.442227	0.544026
6 - 7		-0.25467	0.580595

* indica una diferencia significativa.

Interpretación.

Para discriminar las diferencias entre medias se utilizó el procedimiento de mínima significancia (LSD) de Fisher. A los 5 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para la longitud de la parte aérea (LPA), solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Los pares en asterisco nos confirman que hay diferencias estadísticas entre los pares de tratamientos que se aprecian en la tabla derecha. Así por ejemplo se apreciaron diferencias significativas entre el tratamiento 1 "Rizo aisl-1 y Rizo E10" (1-2), entre Rizo aisl-1 y Azoto"(1-3), entre "Rizo aisl-1 y el consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto)", entre los tratamientos " los cuales correspondían a En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas. Además, entre los tratamientos "Rizo aisl-1 y el consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto)"(1-4), "Rizo aisl-1 y el consorcio (Rizo E10+ Azoto)" (1-5). Finalmente, entre los tratamientos "Rizo aisl-1 y el agua" (1-6) y entre los tratamientos "Rizo aisl-1 y nitrato" (1-7).

Pruebas de Múltiple Rangos para LPA 10 por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
5	17	6.92353	X
7	13	7.43077	XX
2	13	7.50769	XX
6	15	8.32	XX
3	14	8.5	XX
4	14	8.54286	XX
1	15	8.84667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	1.33897	1.30363
1 - 3		0.346667	1.27845
1 - 4		0.30381	1.27845
1 - 5	*	1.92314	1.2187
1 - 6		0.526667	1.25621
1 - 7	*	1.4159	1.30363
2 - 3		-0.992308	1.32507
2 - 4		-1.03516	1.32507
2 - 5		0.584163	1.26753
2 - 6		-0.812308	1.30363
2 - 7		0.0769231	1.34939
3 - 4		-0.0428571	1.3003
3 - 5	*	1.57647	1.24161
3 - 6		0.18	1.27845
3 - 7		1.06923	1.32507
4 - 5	*	1.61933	1.24161
4 - 6		0.222857	1.27845
4 - 7		1.11209	1.32507
5 - 6	*	-1.39647	1.2187
5 - 7		-0.50724	1.26753
6 - 7		0.889231	1.30363

indica una diferencia significativa.

Interpretación.

A los 10 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para la longitud de la parte aérea (LPA), solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Los pares en asterisco nos confirman que hay diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Se observan diferencias entre el tratamiento "Rizo aisl-1 y Rizo E10" (1-2). Además entre el tratamiento "Rizo aisl-1 y Rizo E10+ Azoto" (1-5), entre el tratamiento " Rizo aisl-1 y con nitrato de potasio"(1-7) entre el tratamiento "Azoto y el consorcio Rizo E10+Azoto"(3-5), entre el tratamiento. Así también entre el tratamiento "consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto) 'y el consorcio (Rizo E10+ Azoto)"(4-5). Finalmente entre el tratamiento" el consorcio Rizo E10+Azoto y el agua" (5-6). En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Pruebas de Múltiple Rangos para QUINCE por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
7	13	9.24615	X
4	15	9.68	XX
5	17	9.69412	XX
2	14	9.97857	XXX
6	13	10.3308	XXX
1	16	10.9438	XX
3	15	11.36	X

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0.965179	1.53082
1 - 3		-0.41625	1.50335
1 - 4		1.26375	1.50335
1 - 5		1.24963	1.457
1 - 6		0.612981	1.5619
1 - 7	*	1.6976	1.5619
2 - 3		-1.38143	1.55445
2 - 4		0.298571	1.55445
2 - 5		0.284454	1.50966
2 - 6		-0.352198	1.61114
2 - 7		0.732418	1.61114
3 - 4	*	1.68	1.52741
3 - 5	*	1.66588	1.48181
3 - 6		1.02923	1.58507
3 - 7	*	2.11385	1.58507
4 - 5		-0.0141176	1.48181
4 - 6		-0.650769	1.58507
4 - 7		0.433846	1.58507
5 - 6		-0.636652	1.54117
5 - 7		0.447964	1.54117
6 - 7		1.08462	1.6407

Interpretación.

A los 15 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para la longitud de la parte aérea (LPA), solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Así se aprecian en color rojo las diferencias significativas, entre el tratamiento "Azoto y el consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto)" (3-4), entre el tratamiento "Azoto y el consorcio (Rizo E10+ Azoto)"(3-5) y entre el tratamiento "Azoto y Nitrato de potasio" (3-7). En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Pruebas de Múltiple Rangos para LPA20 por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
7	16	10.6	X
4	15	10.7133	XX
5	17	11.2294	XX
2	15	11.56	XX
6	15	11.6667	XX
1	16	12.1688	XX
3	15	12.3133	X

* indica una diferencia significativa.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0.60875	1.7057
1 - 3		-0.144583	1.7057
1 - 4		1.45542	1.7057
1 - 5		0.939338	1.65311
1 - 6		0.502083	1.7057
1 - 7		1.56875	1.67797
2 - 3		-0.753333	1.733
2 - 4		0.846667	1.733
2 - 5		0.330588	1.68125
2 - 6		-0.106667	1.733
2 - 7		0.96	1.7057
3 - 4		1.6	1.733
3 - 5		1.08392	1.68125
3 - 6		0.646667	1.733
3 - 7	*	1.71333	1.7057
4 - 5		-0.516078	1.68125
4 - 6		-0.953333	1.733
4 - 7		0.113333	1.7057
5 - 6		-0.437255	1.68125
5 - 7		0.629412	1.65311
6 - 7		1.06667	1.7057

Interpretación.

A los 20 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para la longitud de la parte aérea (LPA), solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Solo se llegó a apreciar una diferencia estadística significativa entre el tratamiento "Azoto y nitrato de potasio" (3-7). En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Pruebas de Múltiple Rangos para LPA25 por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4	15	11.7133	X
2	15	12.3133	X
5	17	12.5	X
7	16	13.4375	XX
3	15	14.2333	XX
1	17	14.3235	XX
6	14	19.5143	X

* indica una diferencia significativa.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		2.0102	6.55829
1 - 3		0.0901961	6.55829
1 - 4		2.6102	6.55829
1 - 5		1.82353	6.35004
1 - 6		-5.19076	6.68157
1 - 7		0.886029	6.4485
2 - 3		-1.92	6.76013
2 - 4		0.6	6.76013
2 - 5		-0.186667	6.55829
2 - 6	*	-7.20095	6.87979
2 - 7		-1.12417	6.65367
3 - 4		2.52	6.76013
3 - 5		1.73333	6.55829
3 - 6		-5.28095	6.87979
3 - 7		0.795833	6.65367
4 - 5		-0.786667	6.55829
4 - 6	*	-7.80095	6.87979
4 - 7		-1.72417	6.65367
5 - 6	*	-7.01429	6.68157
5 - 7		-0.9375	6.4485
6 - 7		6.07679	6.77521

El StatAdvisor

Interpretación.

A los 25 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para la longitud de la parte aérea (LPA), solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Los pares en asterisco nos confirman que hay diferencias estadísticas entre los pares de tratamiento. Así por ejemplo se aprecian diferencias significativas entre el tratamiento "Rizo E10 y Agua" (2-6), entre el tratamiento "consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto) y solo con agua"(4-6). Finalmente entre el tratamiento "Consorcio (Rizo E10+ Azoto) y solo con agua"(5-6).

8.2. Evaluación estadística a los treinta días

Pruebas de Múltiple Rangos para LPA por Macetas 30 Días

Método: 95.0 porcentaje LSD

Macetas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4	6	13.405	X
5	6	13.405	X
6	6	14.15	XX
2	5	14.366	XX
7	6	14.9367	XX
1	6	15.405	XX
3	6	15.9233	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		1.039	2.17702
1 - 3		-0.518333	2.0757
1 - 4		2.0	2.0757
1 - 5		2.0	2.0757
1 - 6		1.255	2.0757
1 - 7		0.468333	2.0757
2 - 3		-1.55733	2.17702
2 - 4		0.961	2.17702
2 - 5		0.961	2.17702
2 - 6		0.216	2.17702
2 - 7		-0.570667	2.17702
3 - 4	*	2.51833	2.0757
3 - 5	*	2.51833	2.0757
3 - 6		1.77333	2.0757
3 - 7		0.986667	2.0757
4 - 5		0	2.0757
4 - 6		-0.745	2.0757
4 - 7		-1.53167	2.0757
5 - 6		-0.745	2.0757
5 - 7		-1.53167	2.0757
6 - 7		-0.786667	2.0757

* indica una diferencia significativa.

Interpretación. A los 30 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para la longitud de la parte aérea (LPA), solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Los pares en asterisco nos confirman que hay diferencias estadísticas entre los pares de tratamientos que se aprecian en la tabla derecha. Así se aprecian diferencias estadísticas significativas entre el tratamiento "Azoto y el consorcio (Rizo ais-1+ Azoto)"(3-4). Así como, entre el tratamiento "Azoto y el consorcio (Rizo E10+ Azoto)". En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Pruebas de Múltiple Rangos para LR por Macetas, 30 días

Método: 95.0 porcentaje LSD

Macetas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4	6	6.05833	X
3	6	6.21333	X
2	5	6.266	X
7	6	6.55167	X
6	6	7.02	X
1	6	7.17333	X
5	6	7.27167	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0.907333	2.66418
1 - 3		0.96	2.54019
1 - 4		1.115	2.54019
1 - 5		-0.0983333	2.54019
1 - 6		0.153333	2.54019
1 - 7		0.621667	2.54019
2 - 3		0.0526667	2.66418
2 - 4		0.207667	2.66418
2 - 5		-1.00567	2.66418
2 - 6		-0.754	2.66418
2 - 7		-0.285667	2.66418
3 - 4		0.155	2.54019
3 - 5		-1.05833	2.54019
3 - 6		-0.806667	2.54019
3 - 7		-0.338333	2.54019
4 - 5		-1.21333	2.54019
4 - 6		-0.961667	2.54019
4 - 7		-0.493333	2.54019
5 - 6		0.251667	2.54019
5 - 7		0.72	2.54019
6 - 7		0.468333	2.54019

Interpretación. A los 20 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para la longitud de raíz (LR), solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Los pares en asterisco nos confirman que no hay diferencias estadísticas entre los pares de tratamientos que se aprecian en la tabla derecha. En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Pruebas de Múltiple Rangos para PFFA por Macetas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Macetas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
7	6	1.47833	X
6	6	1.55833	X
4	6	1.64	X
5	6	1.66167	X
2	5	1.746	X
1	6	1.82167	X
3	6	1.90667	X

* indica una diferencia significativa.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0.0756667	0.4649
1 - 3		-0.085	0.443265
1 - 4		0.181667	0.443265
1 - 5		0.16	0.443265
1 - 6		0.263333	0.443265
1 - 7		0.343333	0.443265
2 - 3		-0.160667	0.4649
2 - 4		0.106	0.4649
2 - 5		0.0843333	0.4649
2 - 6		0.187667	0.4649
2 - 7		0.267667	0.4649
3 - 4		0.266667	0.443265
3 - 5		0.245	0.443265
3 - 6		0.348333	0.443265
3 - 7		0.428333	0.443265
4 - 5		-0.0216667	0.443265
4 - 6		0.0816667	0.443265
4 - 7		0.161667	0.443265
5 - 6		0.103333	0.443265
5 - 7		0.183333	0.443265
6 - 7		0.08	0.443265

Interpretación.

A los 30 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para el peso fresco de la parte aérea (PFFA), solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Los pares en asterisco nos confirman que no hay diferencias estadísticas entre los pares de tratamientos que se aprecian en la tabla derecha. En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Pruebas de Múltiple Rangos para PFR por Macetas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Macetas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
7	6	0.268333	X
6	6	0.291667	X
3	6	0.3	X
1	6	0.306667	X
2	5	0.316	X
4	6	0.321667	X
5	6	0.348333	X

Interpretación

A los 30 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para el peso fresco de la raíz (PFR), solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Los pares en asterisco nos confirman que no hay diferencias estadísticas entre ninguno de los pares de tratamientos que se aprecian en la tabla derecha. En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.00933333	0.0918918
1 - 3		0.00666667	0.0876154
1 - 4		-0.015	0.0876154
1 - 5		-0.0416667	0.0876154
1 - 6		0.015	0.0876154
1 - 7		0.0383333	0.0876154
2 - 3		0.016	0.0918918
2 - 4		-0.00566667	0.0918918
2 - 5		-0.0323333	0.0918918
2 - 6		0.0243333	0.0918918
2 - 7		0.0476667	0.0918918
3 - 4		-0.0216667	0.0876154
3 - 5		-0.0483333	0.0876154
3 - 6		0.00833333	0.0876154
3 - 7		0.0316667	0.0876154
4 - 5		-0.0266667	0.0876154
4 - 6		0.03	0.0876154
4 - 7		0.0533333	0.0876154
5 - 6		0.0566667	0.0876154
5 - 7		0.08	0.0876154
6 - 7		0.0233333	0.0876154

Pruebas de Múltiple Rangos para PSPA por Macetas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Macetas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
5	6	0.160833	X
6	6	0.163167	X
4	6	0.165333	X
3	6	0.17	X
1	6	0.182	X
7	6	0.186	X
2	5	0.1952	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.0132	0.047651
1 - 3		0.012	0.0454335
1 - 4		0.0166667	0.0454335
1 - 5		0.0211667	0.0454335
1 - 6		0.0188333	0.0454335
1 - 7		-0.004	0.0454335
2 - 3		0.0252	0.047651
2 - 4		0.0298667	0.047651
2 - 5		0.0343667	0.047651
2 - 6		0.0320333	0.047651
2 - 7		0.0092	0.047651
3 - 4		0.00466667	0.0454335
3 - 5		0.00916667	0.0454335
3 - 6		0.00683333	0.0454335
3 - 7		-0.016	0.0454335
4 - 5		0.0045	0.0454335
4 - 6		0.00216667	0.0454335
4 - 7		-0.0206667	0.0454335
5 - 6		-0.00233333	0.0454335
5 - 7		-0.0251667	0.0454335
6 - 7		-0.0228333	0.0454335

Interpretación

A los 30 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para el peso seco de la parte aérea (PSPA), solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Los pares en asterisco nos confirman que no hay diferencias estadísticas entre ninguno de los pares de tratamientos que se aprecian en la tabla derecha. En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Pruebas de Múltiple Rangos para PSR por Macetas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Macetas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
6	6	0.0223333	X
3	6	0.0261667	XX
7	6	0.0266667	XX
1	6	0.0271667	XX
2	5	0.029	XX
5	6	0.0296667	XX
4	6	0.0348333	X

* indica una diferencia significativa.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.00183333	0.00954726
1 - 3		0.001	0.00910296
1 - 4		-0.00766667	0.00910296
1 - 5		-0.0025	0.00910296
1 - 6		0.00483333	0.00910296
1 - 7		0.0005	0.00910296
2 - 3		0.00283333	0.00954726
2 - 4		-0.00583333	0.00954726
2 - 5		-0.000666667	0.00954726
2 - 6		0.00666667	0.00954726
2 - 7		0.00233333	0.00954726
3 - 4		-0.00866667	0.00910296
3 - 5		-0.0035	0.00910296
3 - 6		0.00383333	0.00910296
3 - 7		-0.0005	0.00910296
4 - 5		0.00516667	0.00910296
4 - 6	*	0.0125	0.00910296
4 - 7		0.00816667	0.00910296
5 - 6		0.00733333	0.00910296
5 - 7		0.003	0.00910296
6 - 7		-0.00433333	0.00910296

Interpretación.

A los 30 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para el peso seco de raíz (PSR), solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Los pares en asterisco nos confirman que no hay diferencias estadísticas entre un par de tratamientos que se aprecian en la tabla derecha. En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Pruebas de Múltiple Rangos para GROSOR TALLO por Macetas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Macetas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
6	6	2.05667	X
3	6	2.27667	X
7	6	2.28667	X
1	6	2.3	X
5	6	2.37	X
4	6	2.38833	X
2	5	2.502	X

* indica una diferencia significativa.

Interpretación.

A los 30 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para el grosor de tallo, solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Los pares en asterisco nos confirman que no hay diferencias estadísticas entre ninguno de los pares de tratamientos que se aprecian en la tabla derecha. En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.202	0.576462
1 - 3		0.0233333	0.549635
1 - 4		-0.0883333	0.549635
1 - 5		-0.07	0.549635
1 - 6		0.243333	0.549635
1 - 7		0.0133333	0.549635
2 - 3		0.225333	0.576462
2 - 4		0.113667	0.576462
2 - 5		0.132	0.576462
2 - 6		0.445333	0.576462
2 - 7		0.215333	0.576462
3 - 4		-0.111667	0.549635
3 - 5		-0.0933333	0.549635
3 - 6		0.22	0.549635
3 - 7		-0.01	0.549635
4 - 5		0.0183333	0.549635
4 - 6		0.331667	0.549635
4 - 7		0.101667	0.549635
5 - 6		0.313333	0.549635
5 - 7		0.0833333	0.549635
6 - 7		-0.23	0.549635

Pruebas de Múltiple Rangos para BIOMASA FRESCA TOTAL por Macetas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Macetas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
7	6	3.70833	X
5	6	4.98	XX
6	6	5.02667	XX
3	6	5.62667	XX
4	6	6.15	X
1	6	6.21	X
2	5	6.412	X

* indica una diferencia significativa.

Interpretación.

A los 30 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para la biomasa fresca total, solo tiene un riesgo de 5% de que sean diferentes los pares. Los pares en asterisco nos confirman que hay diferencias estadísticas significativas entre el tratamiento "Rizo aisl-1 y nitrato" (1-7), entre el tratamiento "Rizo E10 y nitrato" (2-7) y finalmente entre el tratamiento "Consortio (Rizo Aisl-1+ azoto) y nitrato" (4-7). En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.202	2.19101
1 - 3		0.583333	2.08905
1 - 4		0.06	2.08905
1 - 5		1.23	2.08905
1 - 6		1.18333	2.08905
1 - 7	*	2.50167	2.08905
2 - 3		0.785333	2.19101
2 - 4		0.262	2.19101
2 - 5		1.432	2.19101
2 - 6		1.38533	2.19101
2 - 7	*	2.70367	2.19101
3 - 4		-0.523333	2.08905
3 - 5		0.646667	2.08905
3 - 6		0.6	2.08905
3 - 7		1.91833	2.08905
4 - 5		1.17	2.08905
4 - 6		1.12333	2.08905
4 - 7	*	2.44167	2.08905
5 - 6		-0.0466667	2.08905
5 - 7		1.27167	2.08905
6 - 7		1.31833	2.08905

XI.-Evaluación estadística de las macetas a los cinco días tarwi

a) Estadística descriptiva de la longitud de la parte aérea (LPA)

Informe

LPA 5 DIAS

TRATAMIENTO	Media	N	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Varianza	Error estándar de la media
Rizo aisl-1	7,1681	6	3,28917	4,50	11,93	10,819	1,34280
Rizo E10	9,0375	6	3,14467	4,55	12,60	9,889	1,28381
Azoto	10,8292	6	,78905	10,15	12,25	,623	,32213
Rizo E10+Azoto	9,8333	6	3,57783	3,17	12,73	12,801	1,46064
Rizo aisl-1+Azoto	7,9917	6	3,09761	4,15	12,25	9,595	1,26459
Agua	8,4986	6	3,13474	5,13	12,90	9,827	1,27975
N+	8,8542	6	2,93174	3,98	11,63	8,595	1,19688
Total	8,8875	42	2,97277	3,17	12,90	8,837	,45871

b) Prueba a de normalidad

Pruebas de normalidad

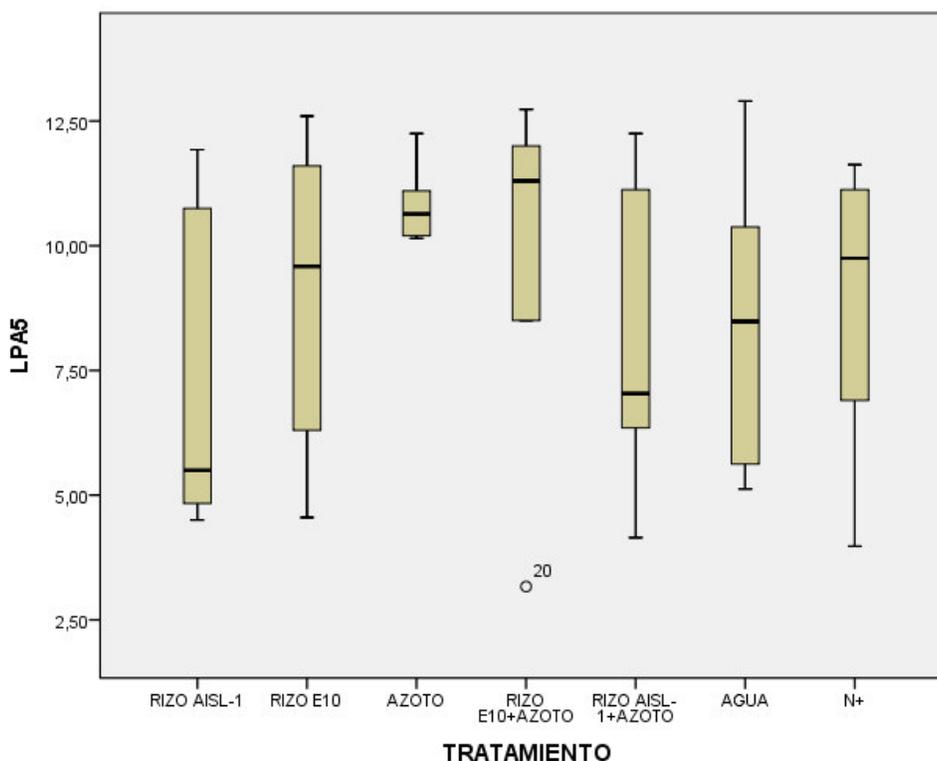
TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
LPA 1	,305	6	,084	,787	6	,044
2	,188	6	,200*	,946	6	,705
3	,199	6	,200*	,864	6	,205
4	,280	6	,153	,812	6	,075
5	,211	6	,200*	,924	6	,532
6	,221	6	,200*	,901	6	,379
7	,204	6	,200*	,901	6	,382

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Interpretación: En la prueba estadística de Shapiro-Wilk, con muestras menores a 50, podemos afirmar que si el estadístico es >0.05 . Se acepta la normalidad de los datos de cada tratamiento de la mayoría de datos analizados, ello se afirma al evaluar el sig. el cual es mayor a 0.05.

c) Prueba de normalidad



Interpretación: Al observar la gráfica podemos concluir que hay una cercanía a la media, línea central de cada caja. Por lo tanto podemos afirmar que los datos siguen una distribución normal en la mayoría de los tratamientos a los veinticinco días de evaluación de los datos.

d) Análisis de varianza del LPA

ANOVA

LPA 5 DIAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	51,591	6	8,599	,968	,461
Dentro de grupos	310,740	35	8,878		
Total	362,331	41			

Interpretación: Al observar el valor de la sig., el cual es 0.461. Como el p valor o valor de significancia es mayor a 0.05 entonces se acepta la hipótesis que hay variación entre los grupos analizados o no hay diferencias significativas en cada grupo. Por lo tanto no realizamos pruebas adicionales.

XI.-Evaluación estadística de las macetas a los diez días tarwi

a) Estadística descriptiva de la longitud de la parte aérea (LPA)

Informe

LPA DIEZ DIAS

TRATAMIENTO	Media	N	Desviación estándar	Máximo	Mínimo	Varianza	Error estándar de curtosis
RIZO AISL-1	11,1500	6	4,16176	16,83	6,50	17,320	1,741
RIZO E10	13,4861	6	3,55487	16,83	7,80	12,637	1,741
AZOTO	15,1042	6	1,26821	17,43	13,78	1,608	1,741
RIZO E10+AZOTO	13,0875	6	5,25299	17,70	4,65	27,594	1,741
RIZO AISL-1+AZOTO	11,7278	6	4,62214	17,17	5,75	21,364	1,741
AGUA	12,5958	6	3,65487	17,30	8,00	13,358	1,741
N+	14,7208	6	3,11578	18,18	9,80	9,708	1,741
Total	13,1246	42	3,80731	18,18	4,65	14,496	,717

b) Prueba a de normalidad

LPA DIEZ DIAS

Pruebas de normalidad

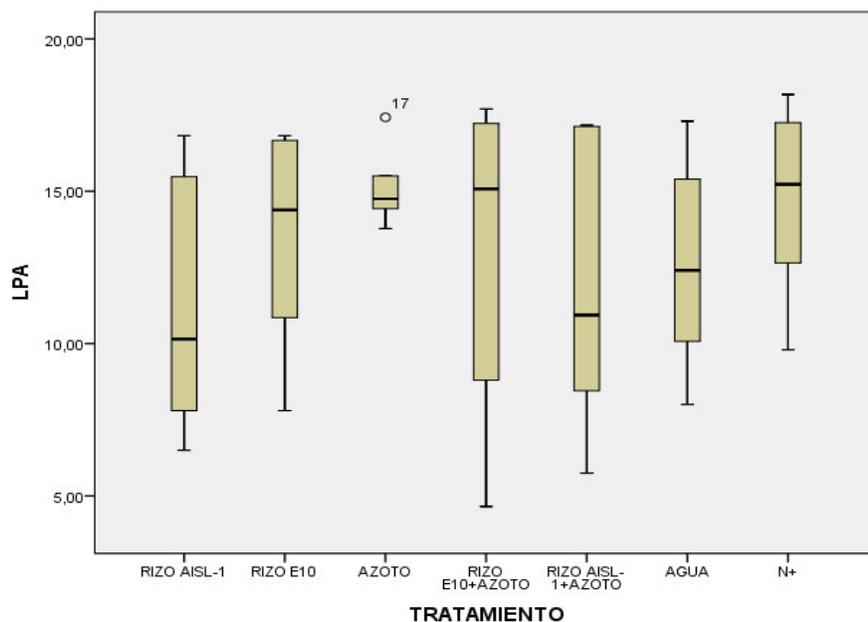
LPA	TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
	RIZO AISL-1	,200	6	,200*	,916	6	,479
	RIZO E10	,188	6	,200*	,905	6	,404
	AZOTO	,246	6	,200*	,884	6	,288
	RIZO E10+AZOTO	,239	6	,200*	,867	6	,214
	RIZO AISL-1+AZOTO	,212	6	,200*	,909	6	,429
	AGUA	,240	6	,200*	,924	6	,531
	N+	,159	6	,200*	,956	6	,790

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Interpretación: En la prueba estadística de Shapiro-Wilk, con muestras menores a 50, podemos afirmar que si el estadístico es >0.05 . Se acepta la normalidad de los datos de cada tratamiento a los diez días de evaluación.

**c) Diagrama de cajas para evaluar la normalidad de los datos de LPA
LPA 10 días**



Interpretación: Al observar la gráfica podemos concluir que hay una cercanía a la media y los datos siguen una distribución normal en todos los tratamientos.

d) Análisis de varianza del LPA, 10 días

ANOVA

LPA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	76,371	6	12,728	,860	,533
Dentro de grupos	517,950	35	14,799		
Total	594,321	41			

Interpretación: Al observar el valor de la sig. o p valor no, el cual es 0.533. Como el p valor o valor de significancia es mayor a 0.05 entonces se acepta la hipótesis que no hay variación entre los grupos analizados o no hay diferencias significativas en cada grupo.

XII.-Evaluación estadística de las macetas a los quince días tarwi

a) Estadística descriptiva de la longitud de la parte aérea (LPA)

Informe

LPA15

TRATAMIENTO	Media	N	Desviación estándar	Máximo	Mínimo	Varianza	Error estándar de la media
RIZO AISL-1	13,8556	6	6,02139	21,65	7,80	36,257	2,45822
RIZO E10	18,2153	6	5,20920	23,67	9,90	27,136	2,12665
AZOTO	19,5917	6	1,41930	22,30	18,43	2,014	,57943
RIZO E10+AZOTO	17,7681	6	7,31638	24,00	5,93	53,529	2,98690
RIZO AISL-1+AZOTO	15,5944	6	6,07061	22,20	7,00	36,852	2,47831
AGUA	16,5083	6	5,39434	22,58	9,68	29,099	2,20223
N+	16,1792	6	4,84044	22,10	9,05	23,430	1,97610
Total	16,8161	42	5,34092	24,00	5,93	28,525	,82412

b) Prueba de normalidad

Pruebas de normalidad

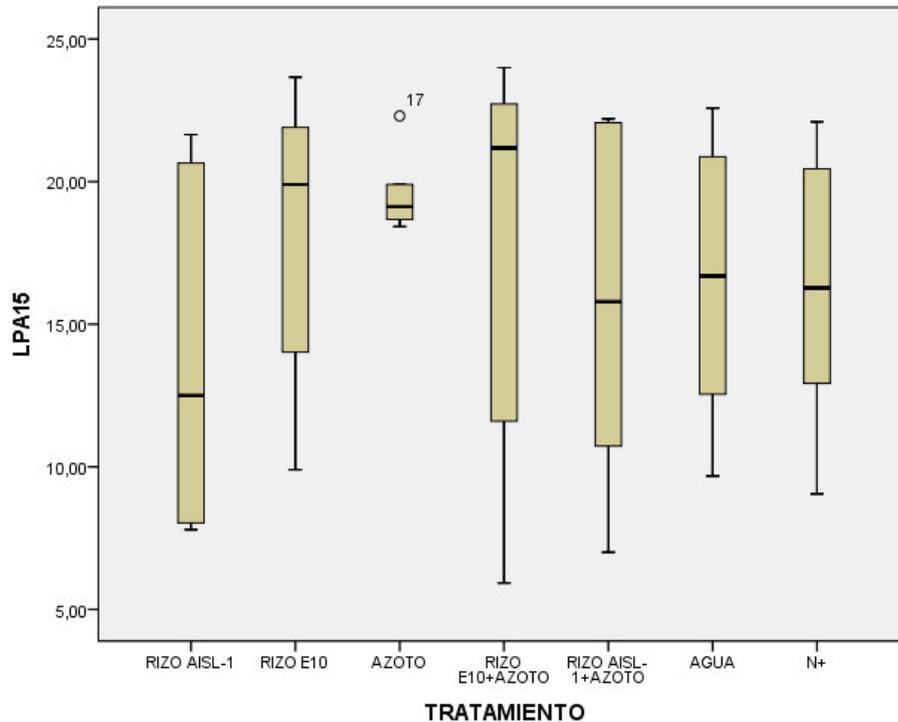
TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
LPA15 RIZO AISL-1	,240	6	,200*	,861	6	,191
RIZO E10	,290	6	,126	,903	6	,394
AZOTO	,282	6	,147	,803	6	,063
RIZO E10+AZOTO	,288	6	,131	,835	6	,118
RIZO AISL-1+AZOTO	,190	6	,200*	,930	6	,576
AGUA	,263	6	,200*	,875	6	,246
N+	,145	6	,200*	,977	6	,935

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Interpretación: En la prueba estadística de Shapiro-Wilk, con muestras menores a 50, podemos afirmar que si el estadístico es mayor a 0.05 (>0.05). Se acepta la normalidad de los datos de cada tratamiento a los quince días de evaluación.

c) Diagrama de cajas para evaluar la normalidad de los datos de LPA LPA 15 días



Interpretación: Al observar la gráfica podemos concluir que hay una cercanía a la media, línea central de cada caja. Por lo tanto podemos afirmar que los datos siguen una distribución normal en la mayoría de los tratamientos a los veinticinco días de evaluación de los datos.

d) Análisis de varianza del LPA, 15 días

ANOVA

LPA15

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	127,952	6	21,325	,717	,639
Dentro de grupos	1041,589	35	29,760		
Total	1169,541	41			

Interpretación: Al observar el valor de la sig. o p valor , el cual es 0.639. Como el p valor o valor de significancia es mayor a 0.05 entonces se acepta la hipótesis que no hay variación entre los grupos analizados o no hay diferencias significativas en cada grupo a los quince días de evaluación.

XIII.-Evaluación estadística de las macetas a los veinte tarwi

a) Estadística descriptiva de la longitud de la parte aérea (LPA)

Informe

LPA20

TRATAM	Media	Desviación estándar	Máximo	Mínimo	Varianza	Error estándar de la media
RIZO AISL-1	16,72222	6,275611	24,400	9,400	39,383	2,562008
RIZO E10	20,91944	6,986685	28,175	9,167	48,814	2,852302
AZOTO	23,10417	1,079400	24,925	21,800	1,165	,440663
RIZO E10+AZOTO	21,54306	7,801625	28,167	7,725	60,865	3,185000
RIZO AISL+AZOTO	18,05694	6,087203	25,067	9,125	37,054	2,485090
AGUA	19,02361	6,412138	25,767	10,525	41,116	2,617744
N+	18,42917	5,434414	26,075	10,675	29,533	2,218590
TOTAL	19,68552	5,988424	28,175	7,725	35,861	,924034

b) Prueba de normalidad

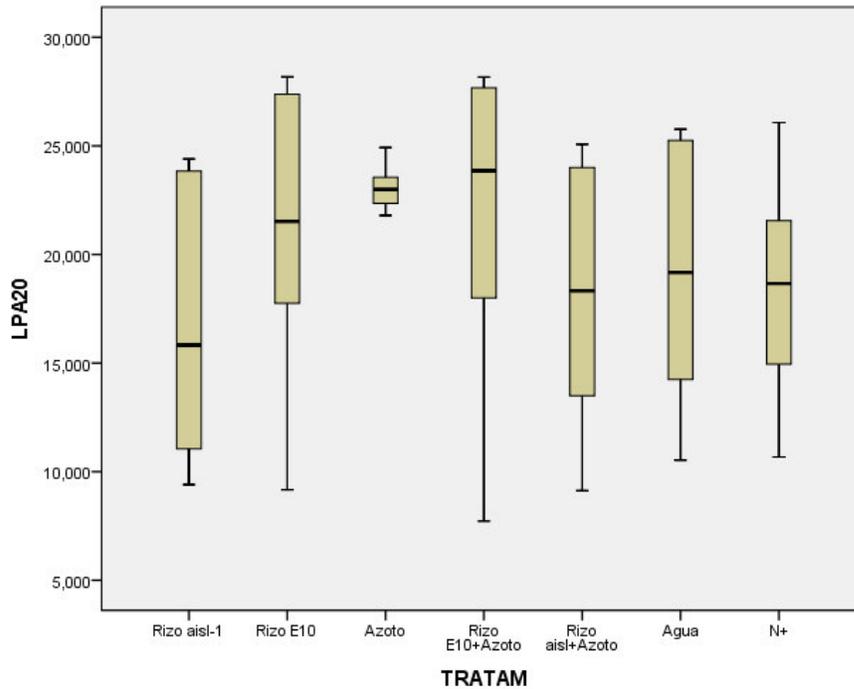
		Pruebas de normalidad					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	TRATAM	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
LPA20	RIZO AISL-1	,222	6	,200*	,890	6	,317
	RIZO E10	,164	6	,200*	,927	6	,554
	AZOTO	,173	6	,200*	,959	6	,813
	RIZO E10+AZOTO	,214	6	,200*	,865	6	,208
	RIZO AISL+AZOTO	,169	6	,200*	,946	6	,711
	AGUA	,222	6	,200*	,890	6	,319
	N+	,152	6	,200*	,989	6	,988

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Interpretación: En la prueba estadística de Shapiro-Wilk, con muestras menores a 50, podemos afirmar que si el estadístico es mayor a 0.05 (>0.05). Se acepta la normalidad de los datos de cada tratamiento a los veinte días de evaluación.

**c) Diagrama de cajas para evaluar la normalidad de los datos de LPA
LPA 20 días**



**d) Análisis de varianza (ANOVA) de la longitud de parte aérea LPA
LPA 20 días**

ANOVA

LPA20

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	180,661	6	30,110	,817	,564
Dentro de grupos	1289,650	35	36,847		
Total	1470,310	41			

Interpretación: Al observar el valor de la sig. o p valor , el cual es 0.564. Como el p valor o valor de significancia es mayor a 0.05 entonces se acepta la hipótesis que no hay variación entre los grupos analizados o no hay diferencias significativas en cada grupo a los veinte días de evaluación. Sin embargo, podemos hacer pruebas complementarias con el análisis de rangos múltiples de Fisher para evaluar diferencias significativas entre los tratamientos analizados.

XIV.-Evaluación estadística de las macetas a los veinte cinco días tarwi

a) Estadística descriptiva de la longitud de la parte aérea (LPA)

Informe

LPA25

TRATAM	Media	Desviación estándar	Máximo	Mínimo	Varianza	Error estándar de la media
Rizo aisl-1	18,88611	6,791274	26,275	10,267	46,121	2,772526
Rizo E10	23,20139	6,906017	29,867	11,100	47,693	2,819370
Azoto	24,74167	1,115198	26,650	23,250	1,244	,455278
Rizo E10+Azoto	23,27639	8,292404	29,867	7,675	68,764	3,385360
Rizo aisl+Azoto	19,80278	6,622279	27,167	9,667	43,855	2,703534
Agua	20,84861	6,142485	28,050	13,733	37,730	2,507659
N+	21,03333	5,855012	28,025	12,500	34,281	2,390299
Total	21,68433	6,165394	29,867	7,675	38,012	,951341

b) Prueba de normalidad de la longitud de la parte aérea (LPA)

Pruebas de normalidad

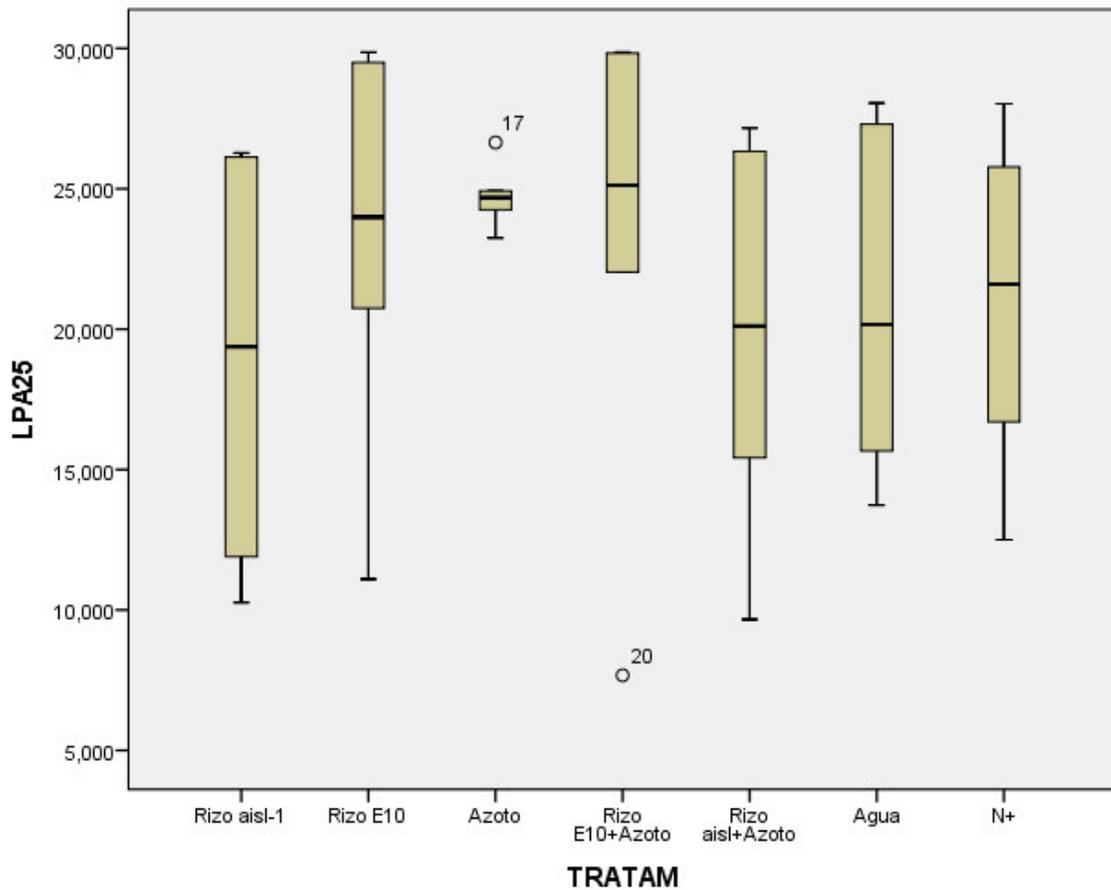
TRATAM	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
LPA25 Rizo aisl-1	,190	6	,200*	,888	6	,307
Rizo E10	,195	6	,200*	,897	6	,355
Azoto	,268	6	,200*	,933	6	,603
Rizo E10+Azoto	,274	6	,180	,816	6	,082
Rizo aisl+Azoto	,171	6	,200*	,943	6	,686
Agua	,220	6	,200*	,893	6	,336
N+	,168	6	,200*	,968	6	,876

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Interpretación: En la prueba estadística de Shapiro-Wilk, con muestras menores a 50, podemos afirmar que si el estadístico es mayor a 0.05 (>0.05). Se acepta la normalidad de los datos de cada tratamiento a los veinticinco días de evaluación.

**c) Diagrama de cajas para evaluar la normalidad de los datos de LPA
LPA 25 días**



**d) Análisis de varianza (ANOVA) de la longitud de parte aérea LPA
LPA 25 días**

ANOVA

LPA25	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	160,056	6	26,676	,668	,676
Dentro de grupos	1398,440	35	39,955		
Total	1558,495	41			

Interpretación: Al observar el valor de la sig. o p valor , el cual es 0.676. Como el p valor o valor de significancia es mayor a 0.05 entonces se acepta la hipótesis que no hay variación entre los grupos analizados o no hay diferencias significativas en cada grupo a los veinticinco días de evaluación.

XV. Informe estadístico del tarwi

a) Estadística descriptiva del crecimiento del cultivo de tarwi a los 30 días de evaluación

TRATAMIENTO		N.HOJAS	LPA	LR	PFFA	PFR	PSPA	PSR	GROSOR	BIOMASA
RIZO AISL-1	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	2,03965	7,60609	4,71846	,50225	,20206	,0247205	,0151993	,13544	,89944
	Media	5,0278	20,4375	8,5861	2,1331	,3617	,178940	,031685	2,0486	2,4103
	Mínimo	3,00	10,70	4,10	1,29	,07	,1375	,0140	1,88	,68
	Máximo	7,50	29,13	15,20	2,80	,65	,2100	,0518	2,25	3,15
RIZO E10	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	,95839	7,16773	3,18719	,61269	,11566	,0484765	,0067663	,26220	,61479
	Media	6,9444	24,8764	9,2306	2,3106	,3917	,188950	,027322	2,0000	2,7022
	Mínimo	5,50	12,55	4,25	1,41	,30	,1051	,0184	1,50	1,71
	Máximo	8,00	32,87	12,73	3,05	,60	,2453	,0348	2,25	3,37
AZOTO	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	,90126	,90774	5,54392	,33732	,07874	,0082885	,0315424	,10176	,38071
	Media	6,5694	27,4347	15,1069	2,2975	,5422	,204185	,057346	2,1042	2,8397
	Mínimo	5,50	26,20	10,33	2,00	,43	,1887	,0260	2,00	2,54
	Máximo	7,50	28,75	23,38	2,82	,64	,2117	,1020	2,28	3,37
RIZO AIS-1+AZOTO	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	1,24545	6,13012	2,31095	,45534	,10734	,0397535	,0157702	,41183	,49367
	Media	5,9306	22,4389	8,0681	2,3194	,3830	,194340	,035889	2,2292	2,7024
	Mínimo	4,00	15,00	6,07	1,65	,22	,1393	,0201	1,83	1,87
	Máximo	7,67	29,47	11,65	2,90	,52	,2511	,0599	3,00	3,33
RIZO E10+AZOTO	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	1,91461	9,28388	4,37735	,60798	,10903	,0720888	,0530041	,39039	,97094
	Media	6,5556	25,8306	11,3222	2,3631	,4197	,210190	,074143	2,3111	2,6411
	Mínimo	3,00	8,50	3,50	1,44	,26	,0864	,0310	1,95	,85
	Máximo	8,25	33,47	15,80	3,31	,53	,2933	,1632	3,00	3,79
AGUA	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	2,00260	6,92506	4,89407	,44783	,11493	,0513664	,0295432	,26701	,51273
	Media	5,2917	22,7347	8,6347	2,2497	,3227	,196304	,029953	2,1528	2,5608
	Mínimo	3,33	14,07	3,65	1,71	,21	,1274	,0107	1,88	1,96
	Máximo	7,33	30,25	15,38	2,81	,50	,2636	,0892	2,63	3,16
N+	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Desviación estándar	1,23238	6,05147	5,35507	,26470	,09088	,0220173	,0130347	,07360	,28702
	Media	5,8750	22,8982	11,7403	2,0140	,4050	,176039	,023088	2,0333	2,4190
	Mínimo	4,00	13,37	6,17	1,69	,31	,1539	,0101	1,95	2,01
	Máximo	7,25	30,03	19,45	2,43	,52	,2048	,0392	2,13	2,74
Total	N	42	42	42	42	42	42	42	42	42
	Desviación estándar	1,57035	6,61409	4,76141	,45529	,13034	,0413957	,0310251	,26779	,60919
	Media	6,0278	23,8073	10,3841	2,2411	,4037	,192707	,039918	2,1256	2,6108
	Mínimo	3,00	8,50	3,50	1,29	,07	,0864	,0101	1,50	,68
	Máximo	8,25	33,47	23,38	3,31	,65	,2933	,1632	3,00	3,79

b) Prueba de normalidad de los datos de tarwi a los 30 días

		Pruebas de normalidad					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	TRATAMIENTO	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
N.HOJAS	RIZO AISL-1	,204	6	,200*	,859	6	,186
	RIZO E10	,198	6	,200*	,922	6	,521
	AZOTO	,216	6	,200*	,847	6	,149
	RIZO AIS-1+AZOTO	,189	6	,200*	,979	6	,945
	RIZO E10+AZOTO	,219	6	,200*	,840	6	,131
	AGUA	,303	6	,090	,754	6	,022
	N+	,286	6	,136	,892	6	,330
LPA	RIZO AISL-1	,199	6	,200*	,909	6	,430
	RIZO E10	,256	6	,200*	,915	6	,470
	AZOTO	,174	6	,200*	,978	6	,941
	RIZO AIS-1+AZOTO	,204	6	,200*	,889	6	,311
	RIZO E10+AZOTO	,237	6	,200*	,833	6	,114
	AGUA	,251	6	,200*	,869	6	,223
	N+	,192	6	,200*	,962	6	,833
LR	RIZO AISL-1	,205	6	,200*	,872	6	,233
	RIZO E10	,171	6	,200*	,945	6	,699
	AZOTO	,258	6	,200*	,836	6	,120
	RIZO AIS-1+AZOTO	,264	6	,200*	,855	6	,172
	RIZO E10+AZOTO	,229	6	,200*	,906	6	,412
	AGUA	,310	6	,073	,832	6	,113
	N+	,181	6	,200*	,916	6	,477
PFPA	RIZO AISL-1	,184	6	,200*	,960	6	,818
	RIZO E10	,174	6	,200*	,967	6	,870
	AZOTO	,297	6	,105	,839	6	,129
	RIZO AIS-1+AZOTO	,164	6	,200*	,962	6	,832
	RIZO E10+AZOTO	,223	6	,200*	,956	6	,790
	AGUA	,190	6	,200*	,928	6	,564
	N+	,220	6	,200*	,937	6	,633
PFR	RIZO AISL-1	,137	6	,200*	,996	6	,999
	RIZO E10	,232	6	,200*	,836	6	,120
	AZOTO	,206	6	,200*	,952	6	,759
	RIZO AIS-1+AZOTO	,222	6	,200*	,955	6	,782
	RIZO E10+AZOTO	,210	6	,200*	,917	6	,487
	AGUA	,343	6	,026	,837	6	,122

	N+	,232	6	,200*	,851	6	,159
PSPA	RIZO AISL-1	,186	6	,200*	,963	6	,844
	RIZO E10	,223	6	,200*	,923	6	,527
	AZOTO	,255	6	,200*	,845	6	,145
	RIZO AIS-1+AZOTO	,159	6	,200*	,988	6	,984
	RIZO E10+AZOTO	,246	6	,200*	,933	6	,601
	AGUA	,152	6	,200*	,974	6	,917
	N+	,206	6	,200*	,888	6	,310
PSR	RIZO AISL-1	,181	6	,200*	,929	6	,575
	RIZO E10	,187	6	,200*	,922	6	,518
	AZOTO	,248	6	,200*	,894	6	,340
	RIZO AIS-1+AZOTO	,234	6	,200*	,911	6	,441
	RIZO E10+AZOTO	,278	6	,163	,843	6	,137
	AGUA	,369	6	,011	,666	6	,003
	N+	,231	6	,200*	,844	6	,142
GROSOR	RIZO AISL-1	,307	6	,081	,904	6	,396
	RIZO E10	,333	6	,036	,812	6	,075
	AZOTO	,252	6	,200*	,886	6	,295
	RIZO AIS-1+AZOTO	,243	6	,200*	,846	6	,146
	RIZO E10+AZOTO	,229	6	,200*	,888	6	,310
	AGUA	,216	6	,200*	,902	6	,387
	N+	,341	6	,028	,804	6	,064
BIOMASA	RIZO AISL-1	,298	6	,104	,800	6	,058
	RIZO E10	,249	6	,200*	,929	6	,573
	AZOTO	,277	6	,168	,800	6	,059
	RIZO AIS-1+AZOTO	,241	6	,200*	,947	6	,718
	RIZO E10+AZOTO	,344	6	,025	,850	6	,157
	AGUA	,196	6	,200*	,897	6	,355
	N+	,233	6	,200*	,919	6	,500

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

c) Análisis de varianza (ANOVA) del tarwi a los 30 días de evaluación

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
N.HOJAS	Entre grupos	17,921	6	2,987	1,257	,302
	Dentro de grupos	83,185	35	2,377		
	Total	101,106	41			
LPA	Entre grupos	201,598	6	33,600	,739	,622
	Dentro de grupos	1591,993	35	45,486		
	Total	1793,591	41			
LR	Entre grupos	228,074	6	38,012	1,897	,109
	Dentro de grupos	701,437	35	20,041		
	Total	929,511	41			
PFPA	Entre grupos	,554	6	,092	,407	,870
	Dentro de grupos	7,945	35	,227		
	Total	8,499	41			
PFR	Entre grupos	,170	6	,028	1,885	,111
	Dentro de grupos	,526	35	,015		
	Total	,696	41			
PSPA	Entre grupos	,006	6	,001	,506	,800
	Dentro de grupos	,065	35	,002		
	Total	,070	41			
PSR	Entre grupos	,013	6	,002	2,737	,028
	Dentro de grupos	,027	35	,001		
	Total	,039	41			
GROSOR	Entre grupos	,459	6	,077	1,080	,393
	Dentro de grupos	2,481	35	,071		
	Total	2,940	41			
BIOMASA	Entre grupos	,897	6	,150	,366	,896
	Dentro de grupos	14,318	35	,409		
	Total	15,216	41			

XVI. Análisis estadístico de rangos múltiples en STATGRAPHICS del cultivo de tarwi

Para realizar la prueba se realizó un cambio de la denominación de los tratamientos, se le asignó a cada tratamiento los siguientes valores:

Tratamientos	Valores en el Statgraphics	Número de repeticiones
Rizo aisl1	1	6
Rizo E10	2	6
Azoto	3	6
Rizo E10+Azoto	4	6
Rizo Aisl-1+Azoto	5	6
Agua	6	6
Nitrato	7	6

Pruebas de Múltiple Rangos para LPA 5 por MACETAS

Método: 95.0 porcentaje LSD

MACETAS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1	6	7.168	X
5	6	7.99167	XX
6	6	8.49867	XX
7	6	8.85417	XX
2	6	9.0375	XX
4	6	9.83333	XX
3	6	10.8292	X

* indica una diferencia significativa.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-1.8695	3.49236
1 - 3	*	-3.66117	3.49236
1 - 4		-2.66533	3.49236
1 - 5		-0.823667	3.49236
1 - 6		-1.33067	3.49236
1 - 7		-1.68617	3.49236
2 - 3		-1.79167	3.49236
2 - 4		-0.795833	3.49236
2 - 5		1.04583	3.49236
2 - 6		0.538833	3.49236
2 - 7		0.183333	3.49236
3 - 4		0.995833	3.49236
3 - 5		2.8375	3.49236
3 - 6		2.3305	3.49236
3 - 7		1.975	3.49236
4 - 5		1.84167	3.49236
4 - 6		1.33467	3.49236
4 - 7		0.979167	3.49236
5 - 6		-0.507	3.49236
5 - 7		-0.8625	3.49236
6 - 7		-0.3555	3.49236

Interpretación

A los 5 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para la longitud de la raíz(LR), con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0. En la tabla de la derecha los pares en asterisco nos confirman que hay diferencias estadísticas entre los pares de tratamientos que se aprecian en la tabla derecha. Se observaron diferencias significativas entre el tratamiento "Solo con Rizo aisl.1 y solo con Azoto". En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Nota: En el mismo test de Fisher, de rangos múltiples no se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos analizados a los 10, 15, 20, 25 días 30 días de realizado el experimento. Sin embargo, fue significativo en otros parámetros según se detalla a continuación. Así mismo, el PFPa y el PSPa, no resultaron significativos a los 30 días de evaluación.

Pruebas de Múltiple Rangos para LR por TRATAMIENTO a los 30 días

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4	6	8.07	X
1	6	8.58667	X
6	6	8.635	X
2	6	9.23167	X
5	6	11.3233	XX
7	6	11.7417	XX
3	6	15.11	X

* indica una diferencia significativa

Interpretación:

A los 30 días de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para la longitud de la raíz(LR), hay un riesgo de 5%, los pares en asterisco nos confirman que hay diferencias estadísticas entre los pares de tratamientos que se aprecian en la tabla derecha. Así mismo, se aprecian diferencias entre los tratamientos “Rizo Aisl-1 y Azoto”(1-3), entre los tratamientos “Solo con Rizo E10 y solo con Azoto” (2-3). Así también entre los tratamientos “Solo con Azoto y el consorcio (Rizo E10+ Azoto)”(3-4). Finalmente entre los tratamientos “Azoto y Agua” (3-6). En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.645	5.24725
1 - 3	*	-6.52333	5.24725
1 - 4		0.516667	5.24725
1 - 5		-2.73667	5.24725
1 - 6		-0.0483333	5.24725
1 - 7		-3.155	5.24725
2 - 3	*	-5.87833	5.24725
2 - 4		1.16167	5.24725
2 - 5		-2.09167	5.24725
2 - 6		0.596667	5.24725
2 - 7		-2.51	5.24725
3 - 4	*	7.04	5.24725
3 - 5		3.78667	5.24725
3 - 6	*	6.475	5.24725
3 - 7		3.36833	5.24725
4 - 5		-3.25333	5.24725
4 - 6		-0.565	5.24725
4 - 7		-3.67167	5.24725
5 - 6		2.68833	5.24725
5 - 7		-0.418333	5.24725
6 - 7		-3.10667	5.24725

Pruebas de Múltiple Rangos para PSPA por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
7	6	0.176067	X
1	6	0.17895	X
2	6	0.18895	X
4	6	0.19435	X
6	6	0.1963	X
3	6	0.2042	X
5	6	0.2102	X

* indica una diferencia significativa.

Interpretación:

A los treinta día de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para el peso seco de la parte aérea (PSPA), con un riesgo de 5%, los pares en asterisco nos confirman que no hay diferencias estadísticas entre ninguno de los tratamientos analizados, según la tabla derecha. En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.01	0.0503672
1 - 3		-0.02525	0.0503672
1 - 4		-0.0154	0.0503672
1 - 5		-0.03125	0.0503672
1 - 6		-0.01735	0.0503672
1 - 7		0.00288333	0.0503672
2 - 3		-0.01525	0.0503672
2 - 4		-0.0054	0.0503672
2 - 5		-0.02125	0.0503672
2 - 6		-0.00735	0.0503672
2 - 7		0.0128833	0.0503672
3 - 4		0.00985	0.0503672
3 - 5		-0.006	0.0503672
3 - 6		0.0079	0.0503672
3 - 7		0.0281333	0.0503672
4 - 5		-0.01585	0.0503672
4 - 6		-0.00195	0.0503672
4 - 7		0.0182833	0.0503672
5 - 6		0.0139	0.0503672
5 - 7		0.0341333	0.0503672
6 - 7		0.0202333	0.0503672

El StatAdvisor
Pruebas de Múltiple Rangos para PSR por
TRATAMIENTOS a los 30 días

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
7	6	0.0231	X
2	6	0.02735	XX
6	6	0.0299667	XX
1	6	0.0317	XX
4	6	0.0359	XX
3	6	0.0573667	XX
5	6	0.0741333	X

* indica una diferencia significativa.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0.00435	0.0324622
1 - 3		-0.0256667	0.0324622
1 - 4		-0.0042	0.0324622
1 - 5	*	-0.0424333	0.0324622
1 - 6		0.00173333	0.0324622
1 - 7		0.0086	0.0324622
2 - 3		-0.0300167	0.0324622
2 - 4		-0.00855	0.0324622
2 - 5	*	-0.0467833	0.0324622
2 - 6		-0.00261667	0.0324622
2 - 7		0.00425	0.0324622
3 - 4		0.0214667	0.0324622
3 - 5		-0.0167667	0.0324622
3 - 6		0.0274	0.0324622
3 - 7	*	0.0342667	0.0324622
4 - 5	*	-0.0382333	0.0324622
4 - 6		0.00593333	0.0324622
4 - 7		0.0128	0.0324622
5 - 6	*	0.0441667	0.0324622
5 - 7	*	0.0510333	0.0324622
6 - 7		0.00686667	0.0324622

Interpretación:

A los treinta día de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para el peso seco de raíz (PSR), hay un riesgo de 5%, los pares en asterisco nos confirman que hay diferencias estadísticas entre los tratamientos analizados. Se aprecian diferencias entre el tratamiento entre los tratamientos "Rizo aisl-1 y el consorcio (Rizo Aisl-1+ Azoto)" (1-5), entre los tratamientos " Rizo E10 y el consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto)"(2-5), entre los tratamientos " Azoto y nitrato"(3-7) y entre el tratamiento " consorcio (Rizo E10+ Azoto) y el consorcio (Rizo Aisl-1+Azoto)"(4-5). Así mismo entre el tratamiento "consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto) y el agua" (5-6). Finalmente entre el tratamiento "El consorcio (Rizo aisl-1+ Azoto) y nitrato de potasio"(5-7). En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Pruebas de Múltiple Rangos para Grosor del tallo por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2	6	2.00167	X
7	6	2.035	X
1	6	2.05	X
3	6	2.10667	X
6	6	2.155	X
4	6	2.22833	X
5	6	2.31167	X

* indica una diferencia significativa

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0.0483333	0.312556
1 - 3		-0.0566667	0.312556
1 - 4		-0.178333	0.312556
1 - 5		-0.261667	0.312556
1 - 6		-0.105	0.312556
1 - 7		0.015	0.312556
2 - 3		-0.105	0.312556
2 - 4		-0.226667	0.312556
2 - 5		-0.31	0.312556
2 - 6		-0.153333	0.312556
2 - 7		-0.0333333	0.312556
3 - 4		-0.121667	0.312556
3 - 5		-0.205	0.312556
3 - 6		-0.0483333	0.312556
3 - 7		0.0716667	0.312556
4 - 5		-0.0833333	0.312556
4 - 6		0.0733333	0.312556
4 - 7		0.193333	0.312556
5 - 6		0.156667	0.312556
5 - 7		0.276667	0.312556
6 - 7		0.12	0.312556

Interpretación:

A los treinta día de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para el grosor de tallo, hay un riesgo de 5%, los pares en asterisco nos confirman que no hay diferencias estadísticas entre ninguno de los tratamientos analizados. En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

Pruebas de Múltiple Rangos para Biomasa fresca por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1	6	2.41167	X
7	6	2.42167	X
6	6	2.56167	X
5	6	2.64333	X
4	6	2.705	X
2	6	2.705	X
3	6	2.84167	X

* indica una diferencia significativa.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.293333	0.749721
1 - 3		-0.43	0.749721
1 - 4		-0.293333	0.749721
1 - 5		-0.231667	0.749721
1 - 6		-0.15	0.749721
1 - 7		-0.01	0.749721
2 - 3		-0.136667	0.749721
2 - 4		0	0.749721
2 - 5		0.0616667	0.749721
2 - 6		0.143333	0.749721
2 - 7		0.283333	0.749721
3 - 4		0.136667	0.749721
3 - 5		0.198333	0.749721
3 - 6		0.28	0.749721
3 - 7		0.42	0.749721
4 - 5		0.0616667	0.749721
4 - 6		0.143333	0.749721
4 - 7		0.283333	0.749721
5 - 6		0.0816667	0.749721
5 - 7		0.221667	0.749721
6 - 7		0.14	0.749721

Interpretación:

A los treinta día de evaluación, según el método de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, para la biomasa fresca, con un riesgo de 5%, los pares en asterisco nos confirman que no hay diferencias estadísticas entre ninguno de los tratamientos analizados. En la tabla de la izquierda los que están una misma columna no difieren estadísticamente, pero si entre las columnas.

ANEXO IV. GRÁFICOS

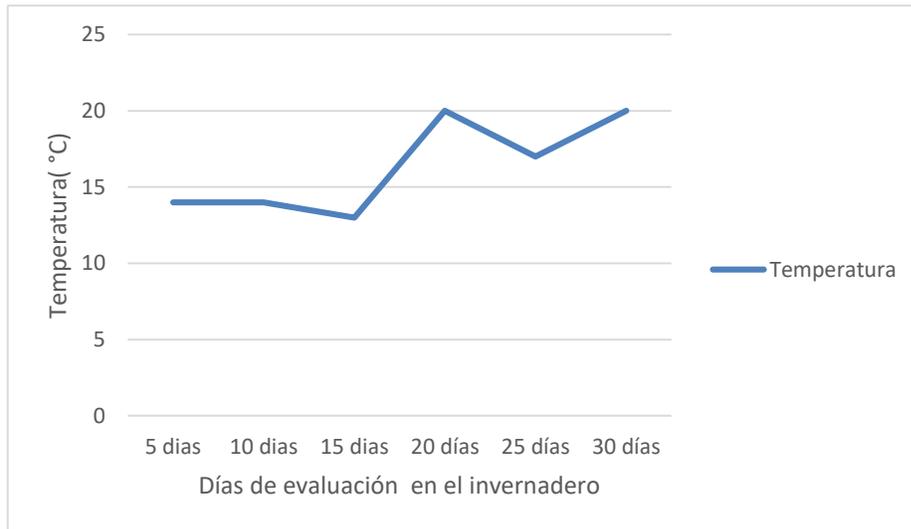


Figura 1. Gráfico de la temperatura en el invernadero de frijol caupí con respecto a los días de evaluación



Figura 2. Gráfico de la temperatura en el invernadero del tarwi con respecto a los días de evaluación

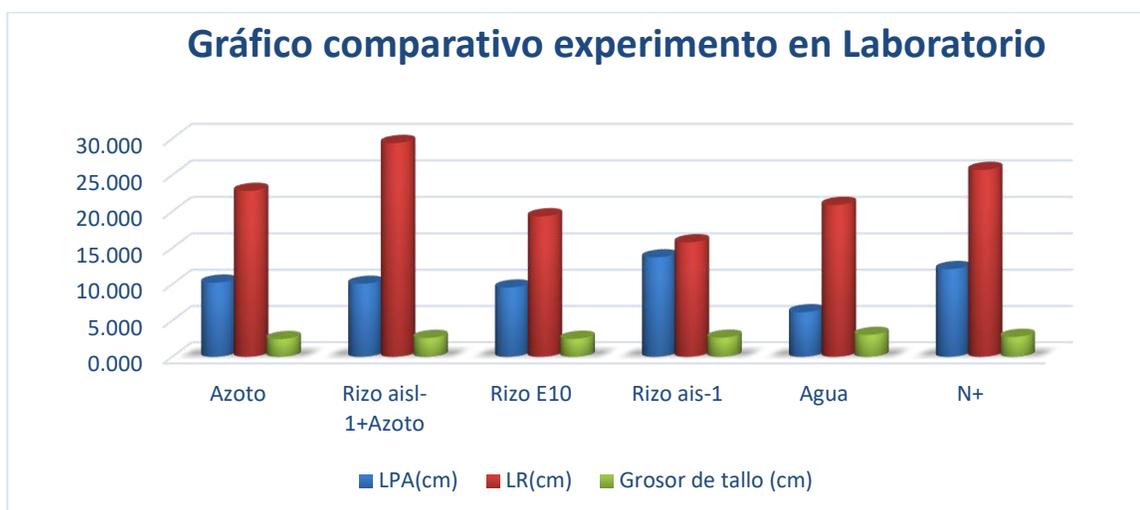


Figura 3. Gráfico comparativo de la evaluación final del tarwi en el laboratorio (20 días)

Cuadro 1. Resumen de resultados de los parámetros evaluados en las plántulas de frijol caupí en macetas (30 días)

Tratamientos	LPA (cm)	LR (cm)	PFFA (g)	PFR (g)	PSPA (g)	PSR (g)	GR.TALLO (cm)	BIO.FRESCA (g)
Rizo aisl	15,4028	7,1722	1,8200	,3072	,18178	,02725	2,3000	6,2102
Rizo E10	14,3667	6,2667	1,7453	,3147	,19533	,02920	2,5000	6,4120
Azoto	15,9222	6,2139	1,9072	,3000	,16994	,02619	2,2778	5,6267
Rizo aisl+Azoto	13,4056	6,0611	1,6400	,3211	,16533	,03494	2,3889	6,1500
Rizo E10+Azoto	13,4056	7,2722	1,6611	,3483	,16061	,02956	2,3694	4,9800
Agua	14,1500	7,0194	1,5567	,2922	,16325	,02219	2,0574	5,0267
N+	14,9361	6,5528	1,4783	,2665	,18604	,02668	2,2847	3,7081

Cuadro 2. Resumen de resultados de los parámetros evaluados en las plántulas de tarwi en macetas (30 días)

Tratamientos	LPA (cm)	LR* (cm)	PFFA (g)	PFR (g)	PSPA (g)	PSR (g)	GROSOR DE .TALLO (cm)	BIOMASA FRESCA (g)
<i>Rizo aisl-1</i>	20,4375	8,5861	2,1331	,3617	,178940	,031685	2,0486	2,4103
<i>Rizo E10</i>	24,8764	9,2306	2,3106	,3917	,188950	,027322	2,0000	2,7022
<i>Azoto*</i>	27,4347	15,1069	2,2975	,5422	,204185	,057346	2,1042	2,8397
<i>Rizo aisl1+Azoto</i>	22,4389	8,0681	2,3194	,3830	,194340	,035889	2,2292	2,7024
<i>Rizo E10+Azoto</i>	25,8306	11,3222	2,3631	,4197	,210190	,074143	2,3111	2,6411
<i>Agua</i>	22,7347	8,6347	2,2497	,3227	,196304	,029953	2,1528	2,5608
<i>N+</i>	22,8982	11,7403	2,0140	,4050	,176039	,023088	2,0333	2,4190

ANEXOS V. FOTOS



Figura 1. Lugar de muestreo del suelo y mapa de sitio para la obtención de suelos para el aislamiento de cepas nativas de *Azotobacter*, campos de cultivo de UNALM 2017



Figura 2. Facultad de Biología de la UNMSM, lugar donde se realizaron los ensayos en laboratorio



Figura 3. Cepas aisladas empleadas y biofertilizantes(en frascos color ámbar) para los ensayos con frijol caupí y tarwi

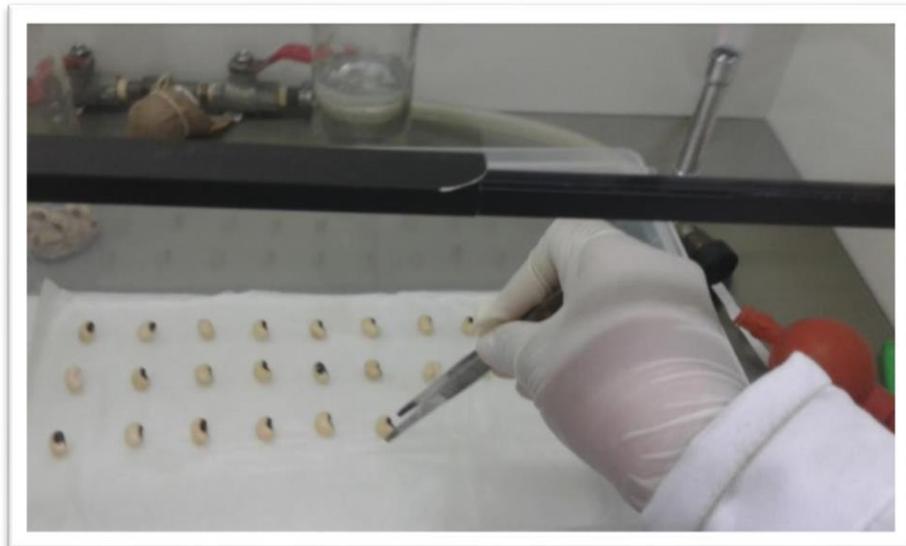
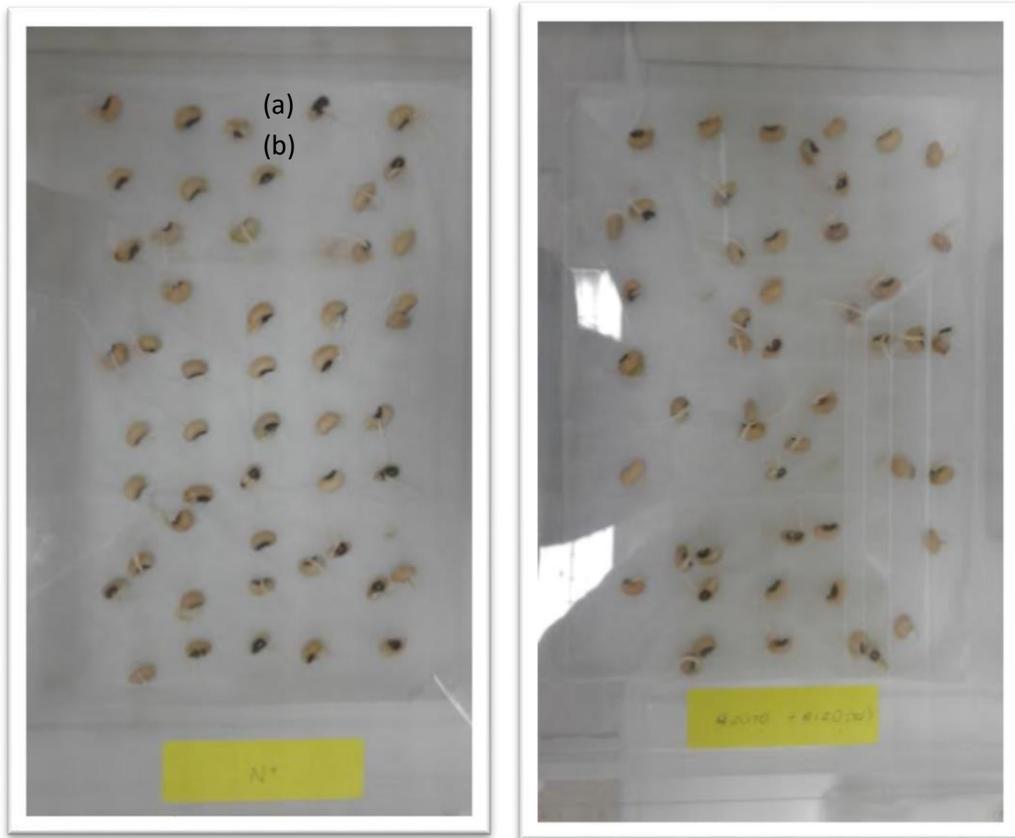


Figura 4. Siembra de las semillas de frijol caupí en las bandejas en el Laboratorio de bioprocesos industriales UNMSM



Figura 5. Disposición de las semillas en las bandejas de frijol caupí en el laboratorio de bioprocesos industriales UNMSM



(c) N+

(b) *Rizobium + Azotobacter*

Figura 6. Foto comparativa de las semillas tratadas con a) N+ y b) las semillas tratadas con Azoto + Rizo a las 48h, evaluación de la germinación

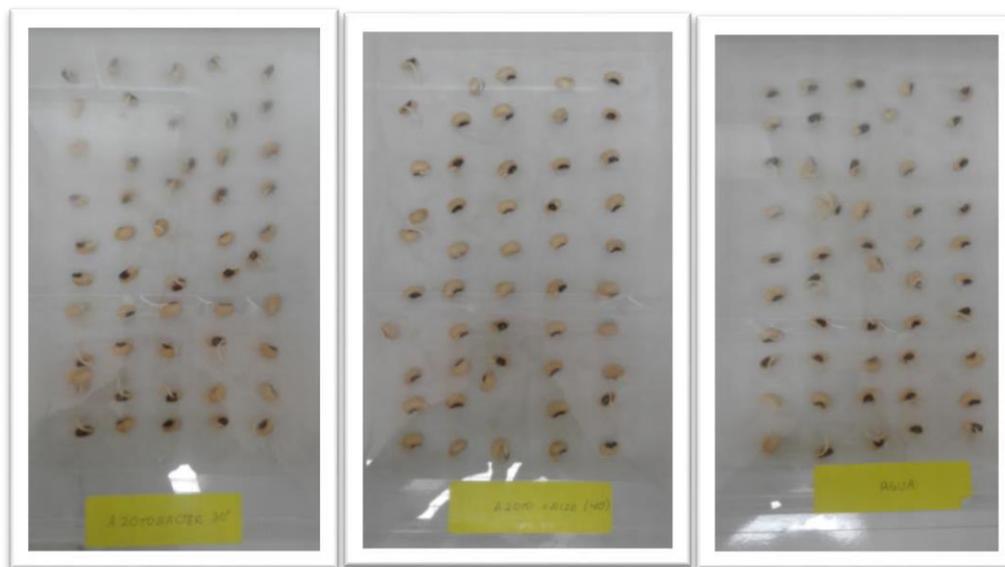


Figura 7. Evaluación de la germinación de los tratamientos *Azotobacter* 30', *Azotobacter* 40' - y agua



Figura 8. Evaluación de la germinación de los tratamientos *Azotobacter* y agua



Figura 9. Evaluación de las plantas a los 18 días en el Laboratorio de Bioprocesos



Figura 10. Comparación de las plantas de frijol caupí a los 18 días en bandejas inoculada con los consorcios bacterianos en dos tiempos de imbibición



Figura 11. Comparación de las plantas de frijol caupí a los 18 días en bandejas inoculada con las cepas de *Azotobacter* en dos tiempos de imbibición



Figura 12. a) Preparación de las macetas con suelo agrícola para instalación en el invernadero b) Pre germinación de semillas c) Siembra de semillas de frijol caupí

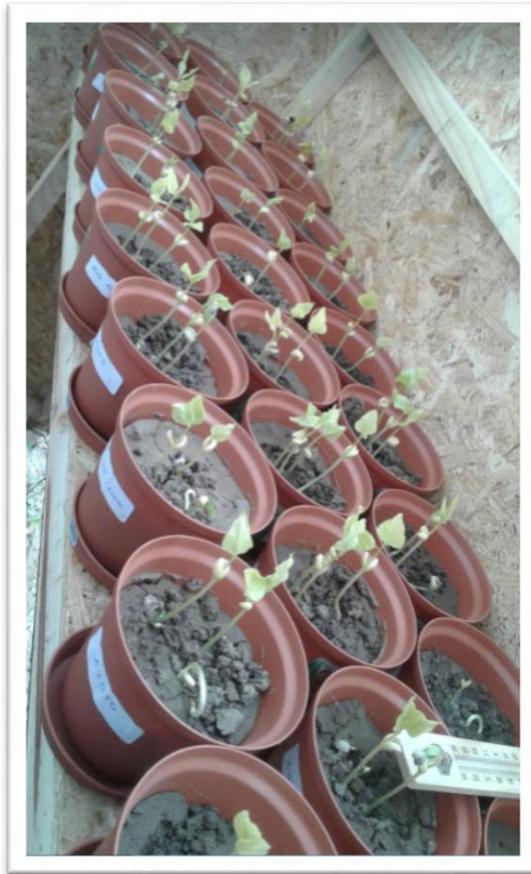


Figura 13. Invernadero con el cultivo de frijol caupí



Figura 14. Macetas con tres tratamientos Rizo aislado, N+ (de izquierda a derecha) y a los quince días de evaluación



Figura 15. a) Macetas con tres tratamientos Azoto, N+ y agua a los quince días de evaluación



Figura 16. Plantas de caupí a los 32 días en de izquierda a derecha a) Rizo ais-1+Azoto, N+ y agua y en b) Plantas de caupí a los 32 días, de izquierda a derecha Rizo E10, N+ y agua



**Figura 17 . Comparación de las plantas de caupí a los 32 días, de izquierda a derecha
Azoto, N+ y agua**



**Figura 18. Comparación de las plantas de tarwi a los 18 días en bandejas
Azoto, N+ y agua**



Figura 19. Comparación de las plantas de tarwi a los 18 días en bandejas
Tratamiento solo con Rizo E10 y solo con agua



Figura 20. Comparación de las plantas de tarwi a los 18 días en bandejas
Tratamiento solo con Rizo aisl-1 y solo con agua



Figura 21. Comparación de las plantas de tarwi a los 18 días en bandejas con el tratamiento solo con Rizo aisl-1, solo con N+ y solo con agua

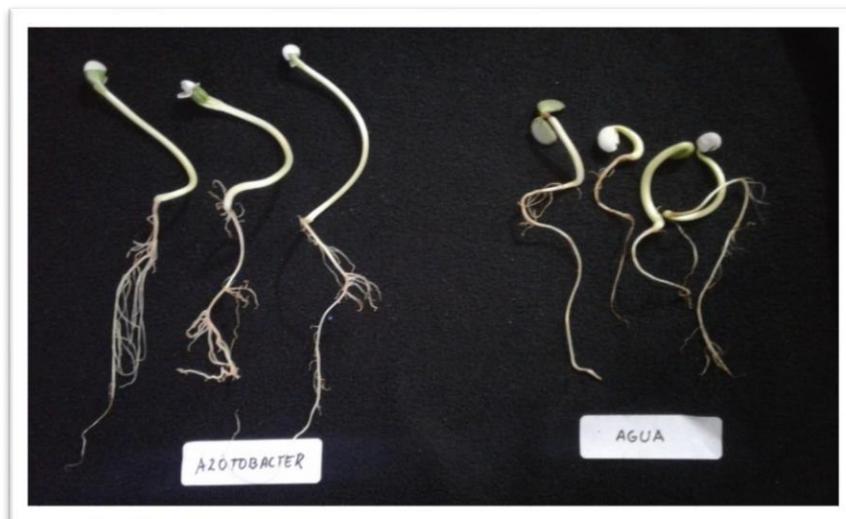


Figura 22. Comparación de las plantas tratadas solo con *Azotobacter* y solo con agua, las cuales crecieron en las bandejas



Figura 23. Plantas de tarwi a la derecha tratamiento solo con *Azotobacter*, tratamiento solo con N+ y solo con agua (Bloque 2)



Figura 24 . Plantas de tarwi a los 12 días de evaluación de izquierda a derecha tratamiento solo con *Azotobacter*, solo con N+ y solo con agua (Bloque 4)



Figura 25. Plantas de tarwi a los 12 días de evaluación, de izquierda a derecha tratamiento solo con el consorcio (*Rizo E10 +Azoto*), solo con el tratamiento con N+ y solo con agua (Bloque 1)



Figura 26. Comparación de las plantas de tarwi a los 17 días, tratamientos solo con azotobacter y solo con agua



Figura 27. Comparación de las plantas de tarwi a los 17 días



Figura 28. Evaluación final a los 30 días, tratamientos con cepas individuales en comparación con el agua y el N+ (bloque 4)



Figura 29. Comparación de las plantas de tarwi a los 17 días, tratamientos con azoto y agua (bloque 6)



Figura 30. Comparación de las plantas de tarwi a los 17 días, tratamientos con azoto y agua (bloque 2)



Figura 31. Plantas de tarwi evaluación final, a los 30 días, de izquierda a derecha *Rizo E10*, N+ y agua (Bloque 6)



Figura 32. Plantas de tarwi evaluación final, a los 30 días, Azoto y agua



Figura 33. Plantas de tarwi evaluación final, a los 30 días, *Rizo E10 +Azoto, N+* y agua (Bloque 1)

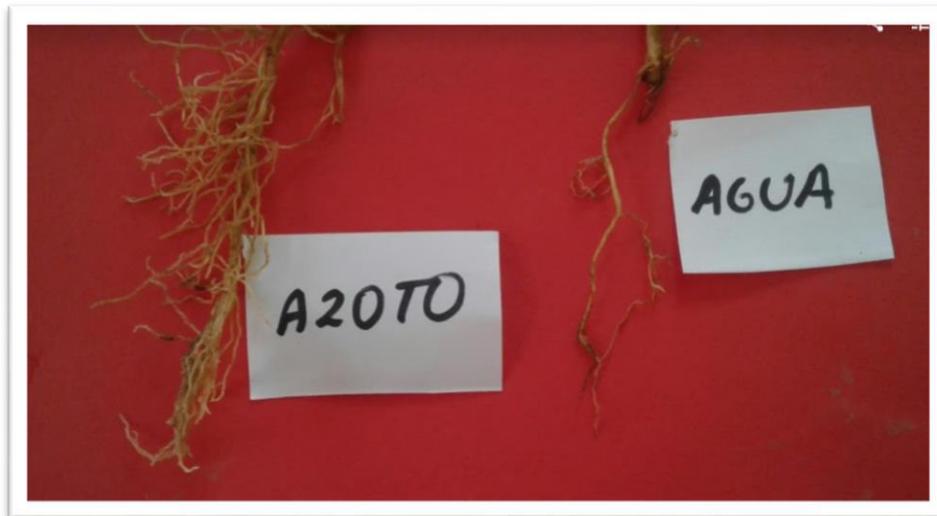
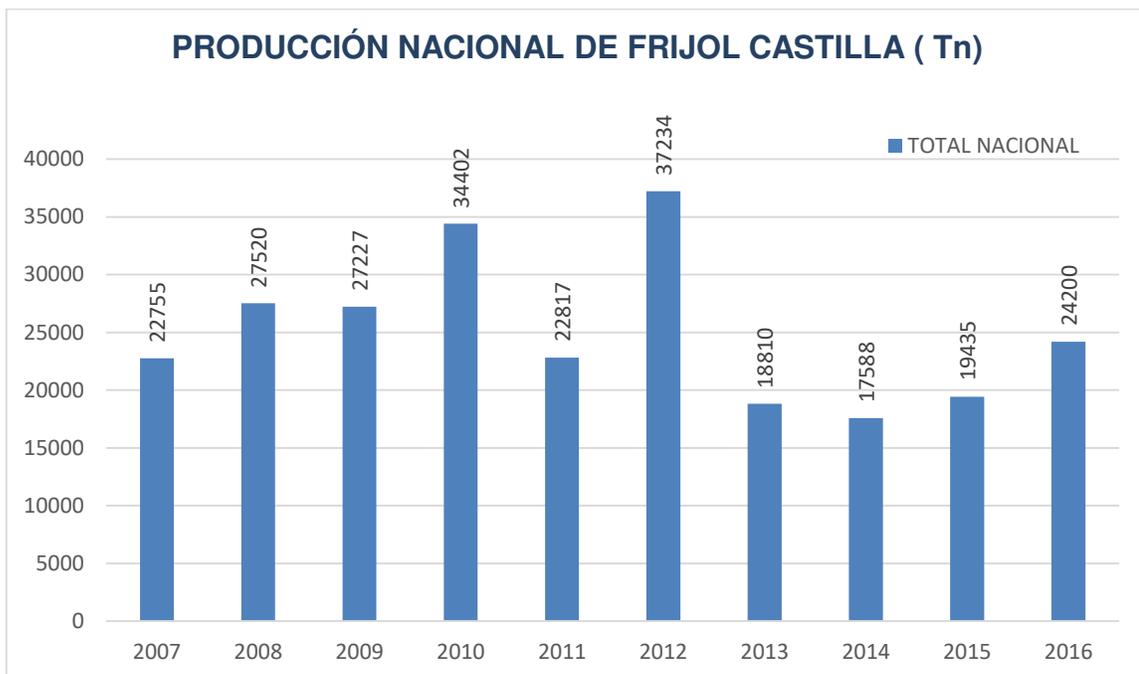


Figura 34. Abundancia de raíz observada en planta inoculadas con *Azotobacter* y su comparación con el agua (Bloque 1)



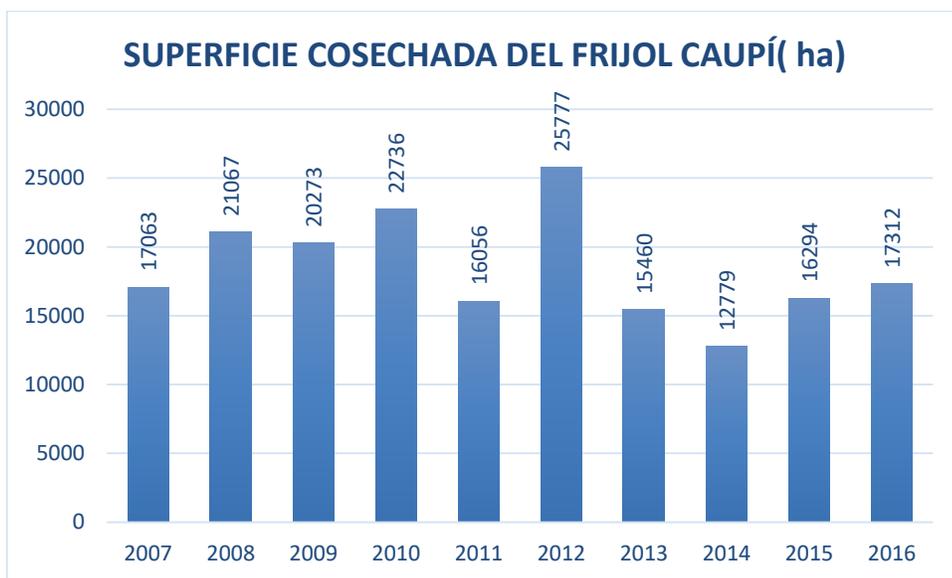
Figura 35. Plantas de tarwi evaluación final, a los 30 días, Azotobacter y agua (Bloque 1)

ANEXOS VI. DATOS DE LOS CULTIVOS



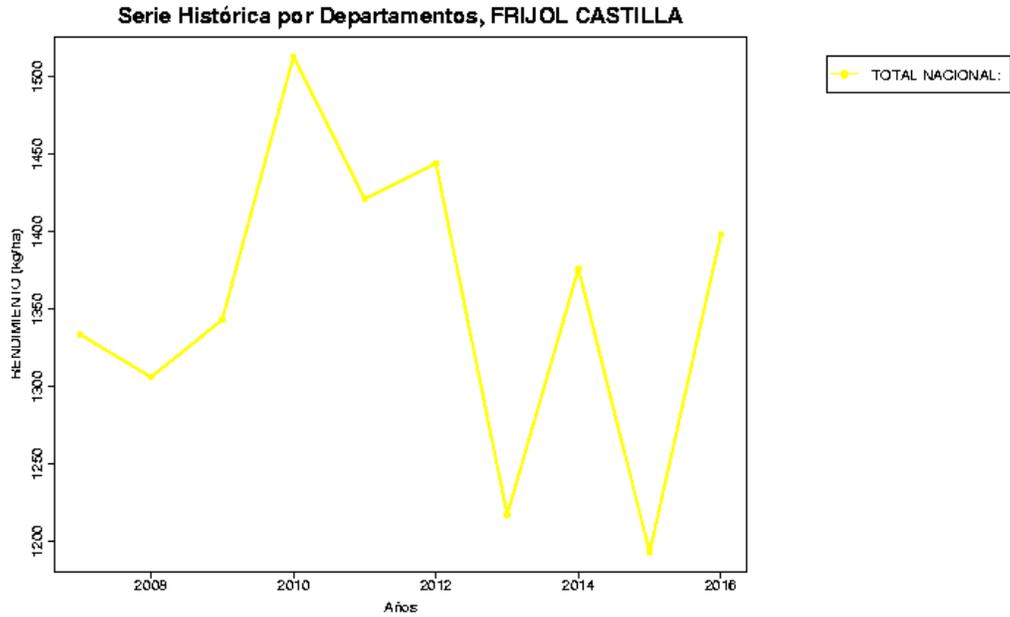
Fuente: Minagri (2018)

Figura 1. Gráfica de la producción nacional del frijol castilla (Tn) desde el año 2007-2016



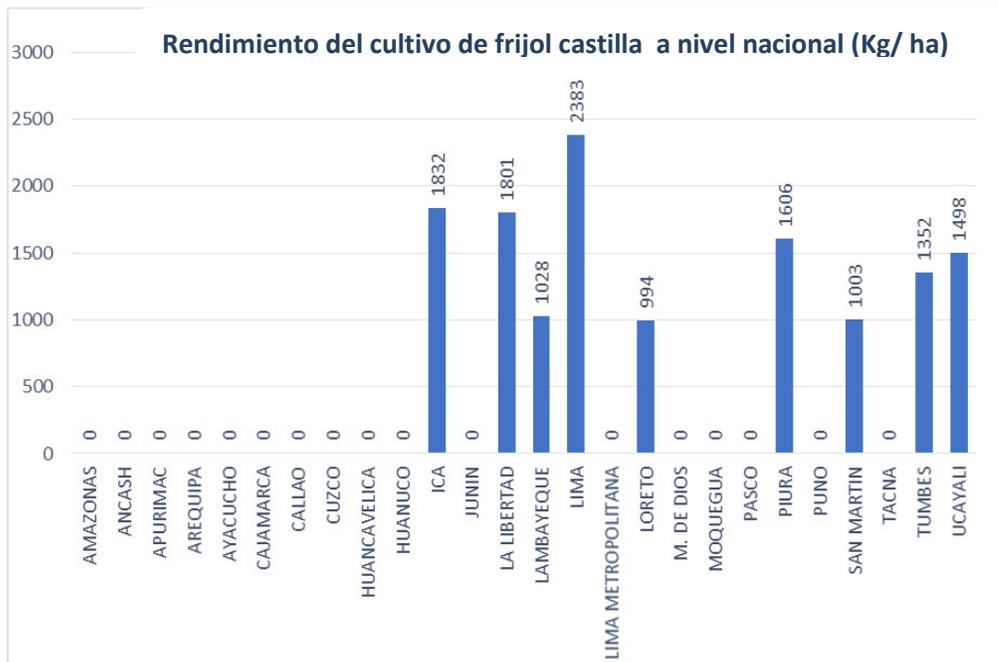
Fuente: Minagri (2018)

Figura 2. Superficie cosechada del frijol castilla (ha) desde el año 2007-2016



Fuente: Minagri (2018)

Figura 3. Gráfico del rendimiento del frijol castilla (ha) desde el año 2007-2016



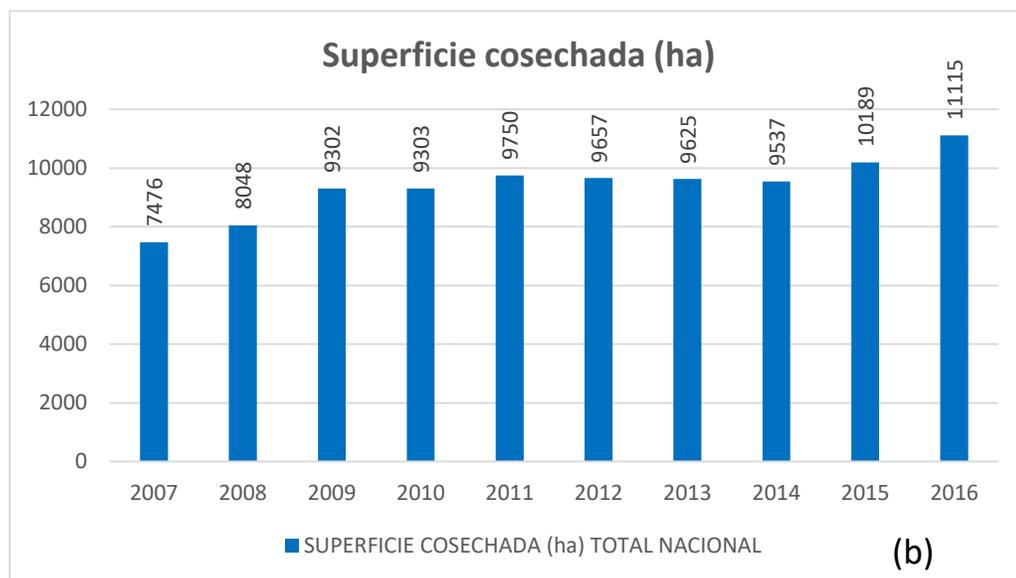
Fuente: Minagri (2018)

Figura 4. Gráfica de series históricas de producción nacional del frijol castilla



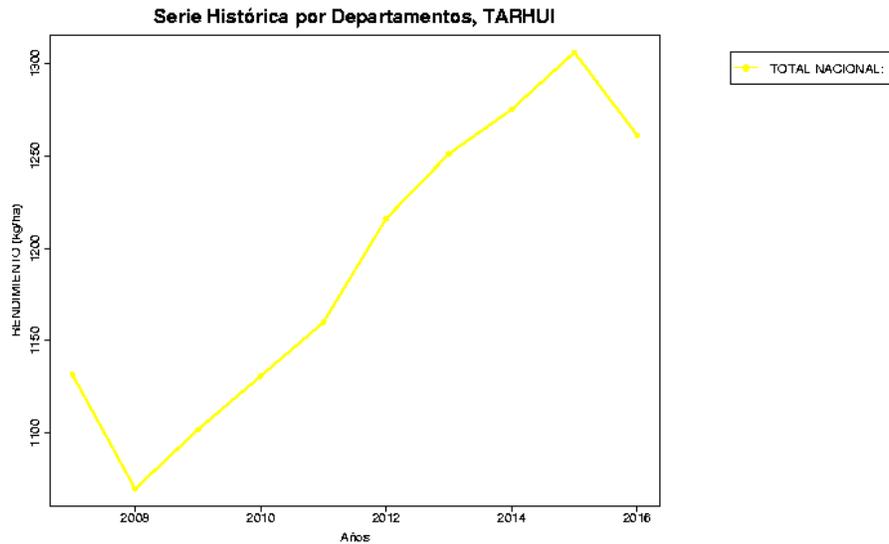
Fuente Minagri (2018)

Figura 5. Gráfica de series históricas de producción nacional del tarwi



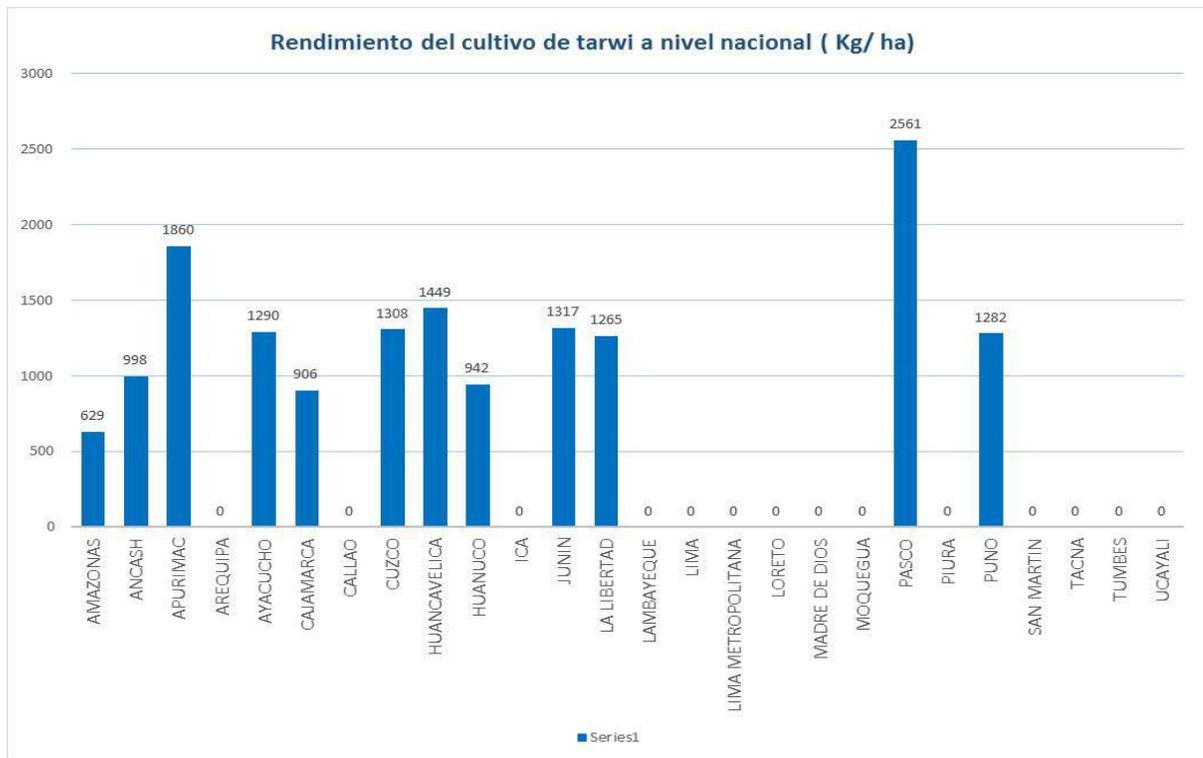
Fuente Minagri (2018)

Figura 6. Gráfica de superficie cosechada del cultivo de tarwi en el Perú (ha)



Fuente Minagri (2018)

Figura 7. Gráfica del rendimiento del cultivo tarwi a nivel nacional (Kg/ ha)



Fuente: Minagri (2018)

Figura 8. Gráfica del rendimiento nacional del cultivo de tarwi por regiones (Kg/ha)

ANEXOS VII. FICHAS EN INVERNADERO
Cuadro 1.EVALUACIÓN DE LAS PLANTAS MACETAS

FECHA DE SIEMBRA EN BANDEJAS:	
FECHA DE COLOCACIÓN EN LAS MACETAS	
TRATAMIENTO	
FECHA DE EVALUACIÓN 1:	
TEMPERATURA	
CULTIVO	

TRATAMIENTO	NUMERO DE PLANTULAS QUE EMERGIERON	TAMAÑO DE PLANTA	OBSERVACIONES
M1			
<i>R1</i>			
<i>R2</i>			
<i>R3</i>			
M2			
<i>R1</i>			
<i>R2</i>			
<i>R3</i>			
M3			
<i>R1</i>			
<i>R2</i>			
<i>R3</i>			
M4			
<i>R1</i>			
<i>R2</i>			
<i>R3</i>			
M5			
<i>R1</i>			
<i>R2</i>			
<i>R3</i>			
M6			
<i>R1</i>			
<i>R2</i>			
<i>R3</i>			

ANEXOS VIII. RESULTADO DE ANÁLISIS DEL SUELO Y CONSOLIDADO DE RESULTADOS

Cuadro 1. Análisis de suelos: Caracterización



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



ANÁLISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : ERIKA YOVANA GONZALES MEDINA

Departamento : LIMA Provincia : LIMA
 Distrito : LA MOLINA Predio :
 Referencia : H.R. 61958-176C-17 Bolt.: 1173 Fecha : 05/01/18

Lab	Número de Muestra Claves	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat De Bases
								Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ + H ⁺			
16342	Suelo Tarwi	7.44	0.34	0.10	0.51	18.2	145	45	30	25	Fr.	20.00	16.63	2.58	0.32	0.46	0.00	20.00	20.00	100
16343	Suelo de UNALM	7.61	3.02	5.70	2.01	69.8	658	45	32	23	Fr.	14.40	8.45	3.55	1.50	0.90	0.00	14.40	14.40	100

A = Arena ; A.Fr = Arena Franca ; Fr.A = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ; Fr.Ar.L = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A = Arcillo Arenoso ; Ar.L = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso

Lab.	Número de Muestra Claves	N %
16342	Suelo Tarwi	0.05
16343	Suelo de UNALM	0.17



Sally Garcia Bendezu
 Jefe del Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM - Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Cuadro 2. Características del suelo muestreado para la obtención de las cepas de *Azotobacter*, *Rhizobium* y para el experimento en macetas

Parámetros	Suelo del muestreo	Suelo de macetas	Método
pH	7.61	7.44	Potenciómetro
Conductividad eléctrica ds/m	3.02	0.34	Conductímetro
CaCO ₃ (%)	5.70	0.10	Método gaseo-volumétrico
MO (%)	2.01	0.51	Método Walkey y Black
P(ppm)	69.8	18.2	Método de Olsen
K(ppm)	658	145	Extracción con acetato
Clase textural	Franco	Franco	Fr: Suelo franco
CIC	14.40	20.00	Saturación con acetato de amonio
Ca+2	8.45	16.63	Fotometría de llama
Mg+2	3.55	2.58	Fotometría de llama
K+	1.50	0.32	Fotometría de llama
Na+	0.90	0.46	Fotometría de llama
Al+3	0.00	0.00	Método de Yuan
N%	0.17	0.05	Método Micro-Kjeldahl

Fuente: Análisis de suelo UNALM

Cuadro 3.Consolidado de los resultados del cultivo de caupí en invernadero

TRATAMIENTO	Macetas	LPA	LR	PFPA(g)	PFR(G)	PSPA(G)	PSR(g)	GROSOR	BIOMASA
								TALLO	FRESCA TOTAL
RIZO AISL-1	1.00	16.17	6.47	1.48	0.33	0.120	0.028	2.33	5.44
	1.00	14.45	5.00	1.92	0.29	0.190	0.023	2.30	4.74
	1.00	13.40	6.07	1.79	0.29	0.166	0.018	2.00	6.56
	1.00	15.57	8.53	2.20	0.39	0.259	0.036	2.67	8.18
	1.00	14.57	9.30	1.71	0.29	0.175	0.032	2.00	5.98
	1.00	18.27	7.67	1.83	0.25	0.182	0.026	2.50	6.36
RIZO E10	2.00	15.83	3.90	2.13	0.32	0.169	0.031	2.67	7.52
	2.00	15.60	6.00	1.72	0.35	0.185	0.028	2.50	6.56
	2.00	15.00	9.43	1.68	0.31	0.164	0.023	2.17	6.08
	2.00	12.17	6.50	1.69	0.33	0.236	0.035	3.00	6.22
	2.00	13.23	5.50	1.51	0.27	0.222	0.028	2.17	5.68
AZOTO	3.00	14.00	5.50	1.62	0.20	0.145	0.010	2.00	1.82
	3.00	15.17	6.00	1.73	0.35	0.151	0.031	2.00	6.24
	3.00	19.00	4.73	2.17	0.19	0.217	0.028	2.33	7.08
	3.00	15.00	5.40	1.99	0.27	0.191	0.027	2.50	6.80
	3.00	16.67	8.60	1.96	0.43	0.141	0.030	2.83	7.16
	3.00	15.70	7.05	1.97	0.36	0.175	0.031	2.00	4.66
RIZO AISL-1	4.00	15.10	5.33	1.69	0.29	0.153	0.030	2.50	6.54
MAS AZOTO	4.00	12.50	5.83	1.69	0.33	0.166	0.030	2.50	6.20
	4.00	13.43	5.33	1.33	0.23	0.142	0.026	2.50	4.66
	4.00	14.73	6.70	1.95	0.47	0.185	0.050	2.50	7.36
	4.00	13.17	8.83	1.97	0.37	0.223	0.051	2.33	7.48
	4.00	11.50	4.33	1.21	0.24	0.123	0.022	2.00	4.66
RIZO E10	5.00	15.50	10.90	1.73	0.35	0.167	0.032	2.25	4.16
MAS AZOTO	5.00	11.00	2.20	1.20	0.32	0.097	0.033	2.00	3.04
	5.00	11.30	8.07	1.68	0.32	0.192	0.033	2.67	6.00
	5.00	15.90	8.30	2.23	0.46	0.221	0.033	2.50	5.38
	5.00	13.33	7.23	1.52	0.33	0.155	0.023	2.50	5.54
	5.00	13.40	6.93	1.61	0.31	0.133	0.024	2.30	5.76
AGUA	6.00	16.90	7.75	1.88	0.28	0.187	0.027	2.30	4.44
	6.00	10.50	2.00	0.36	0.24	0.083	0.011	0.01	0.72
	6.00	15.40	10.60	1.89	0.38	0.187	0.026	2.20	6.80
	6.00	12.37	8.70	1.73	0.36	0.175	0.026	2.50	6.26
	6.00	13.83	7.07	1.54	0.25	0.154	0.028	2.83	5.38
	6.00	15.90	6.00	1.95	0.24	0.193	0.016	2.50	6.56
N+	7.00	15.10	7.85	0.86	0.13	0.142	0.035	2.50	2.08
	7.00	15.75	5.00	1.66	0.17	0.197	0.022	2.25	3.82
	7.00	16.00	8.50	1.90	0.37	0.201	0.027	2.63	9.10
	7.00	12.50	3.00	1.80	0.32	0.244	0.030	2.00	2.12
	7.00	15.10	8.63	1.84	0.37	0.192	0.032	2.17	2.77
	7.00	15.17	6.33	0.81	0.25	0.140	0.014	2.17	2.36

Cuadro 4.Consolidado de los resultados del cultivo del tarwi en invernadero

TRATAMIENTO	Macetas	N.HOJAS	LPA	LR	PFPA(g)	PFR(G)	PSPA(G)	PSR(g)	GROSOR TALLO	BIOMASA
										FRESCA TOTAL
RIZO AISL-1	1.00	3.00	10.70	4.10	1.29	0.07	0.2100	0.0518	2.00	0.68
	1.00	5.33	19.87	8.17	2.80	0.35	0.1845	0.0196	2.00	3.15
	1.00	7.33	28.83	13.50	2.12	0.49	0.1937	0.0328	2.17	2.78
	1.00	3.00	13.50	6.05	1.94	0.39	0.1679	0.0247	2.25	2.33
	1.00	7.50	29.13	15.20	2.36	0.65	0.1801	0.0473	1.88	3.01
	1.00	4.00	20.60	4.50	2.29	0.23	0.1375	0.0140	2.00	2.52
RIZO E10	2.00	6.67	25.57	8.43	2.77	0.40	0.2144	0.0297	2.00	3.17
	2.00	6.50	23.48	7.60	3.05	0.32	0.1754	0.0348	2.13	3.37
	2.00	5.50	12.55	4.25	1.41	0.30	0.1051	0.0184	1.50	1.71
	2.00	8.00	23.80	12.38	1.83	0.43	0.1797	0.0216	2.25	2.26
	2.00	8.00	32.87	10.00	2.59	0.30	0.2453	0.0251	2.00	2.89
	2.00	7.00	31.00	12.73	2.23	0.60	0.2138	0.0345	2.13	2.83
AZOTO	3.00	6.67	27.53	14.17	2.82	0.55	0.2061	0.0820	2.10	3.37
	3.00	7.50	27.03	11.00	2.19	0.61	0.2106	0.1020	2.00	2.80
	3.00	6.75	28.13	11.23	2.11	0.43	0.2117	0.0260	2.28	2.54
	3.00	7.50	26.20	20.55	2.00	0.55	0.2055	0.0363	2.13	2.55
	3.00	5.50	28.75	23.38	2.06	0.48	0.2026	0.0689	2.13	2.54
	3.00	5.50	26.98	10.33	2.62	0.64	0.1887	0.0290	2.00	3.25
RIZO E10	5.00	6.75	26.50	15.80	2.28	0.40	0.1946	0.0316	2.25	2.68
MAS AZOTO	5.00	3.00	8.50	3.50	1.44	0.26	0.0864	0.0336	3.00	0.85
	5.00	6.00	23.57	10.17	2.53	0.33	0.1943	0.0853	2.50	2.87
	5.00	8.25	30.25	14.60	2.47	0.53	0.2285	0.0310	1.95	3.00
	5.00	7.67	32.70	12.87	2.15	0.52	0.2641	0.1001	2.00	2.67
	5.00	7.67	33.47	11.00	3.31	0.48	0.2933	0.1632	2.17	3.79
RIZO AISL-1	4.00	4.00	15.00	7.50	1.65	0.22	0.1719	0.0201	2.03	1.87
MAS AZOTO	4.00	5.25	16.53	6.90	2.15	0.44	0.1781	0.0261	3.00	2.59
	4.00	7.67	29.47	6.07	2.36	0.40	0.2511	0.0410	1.83	2.76
	4.00	6.00	22.05	11.65	2.90	0.43	0.2228	0.0221	2.15	3.33
	4.00	6.00	22.23	6.13	2.74	0.30	0.1393	0.0599	2.03	3.04
	4.00	6.67	29.37	10.17	2.12	0.52	0.2029	0.0462	2.33	2.64
AGUA	6.00	3.33	17.43	3.65	1.86	0.21	0.1516	0.0107	2.00	2.00
	6.00	3.33	14.07	6.83	1.71	0.25	0.1274	0.0153	2.17	1.96
	6.00	7.33	27.43	14.20	2.73	0.44	0.2336	0.0273	2.00	3.16
	6.00	3.75	18.30	5.75	2.27	0.27	0.1852	0.0183	2.63	2.54
	6.00	7.00	28.93	15.38	2.13	0.50	0.2164	0.0892	1.88	2.63
	6.00	7.00	30.25	6.00	2.81	0.27	0.2636	0.0190	2.25	3.08
N+	7.00	6.50	25.93	19.45	2.03	0.39	0.1820	0.0193	2.13	2.42
	7.00	4.00	13.37	6.17	1.69	0.32	0.1542	0.0104	2.00	2.01
	7.00	6.50	22.38	16.80	2.08	0.52	0.1974	0.0386	2.00	2.60
	7.00	4.75	18.85	7.08	2.43	0.31	0.1539	0.0101	2.13	2.74
	7.00	7.25	26.85	11.55	2.09	0.52	0.2048	0.0392	2.00	2.61
	7.00	6.25	30.03	9.40	1.77	0.38	0.1641	0.0210	1.95	2.15