



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y
PARASITOLOGÍA

**Bacterias fijadoras de nitrógeno en *Saccharum officinarum* L.
“caña de azúcar” y su potencial como promotoras de
crecimiento de *Zea mays* L. “maíz”**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN
BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA- PARASITOLOGÍA

PRESENTADA POR:

Bach. Miriam Liliana Flores Diaz

Bach. Ana Lucia Tocto Tomapasca

ASESORA:

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

CO- ASESOR:

MSc. Segundo Alberto Vasquez Llanos

LAMBAYEQUE, PERÚ

2023

Bacterias fijadoras de nitrógeno en *Saccharum officinarum* L. “caña de azúcar” y su potencial como promotoras de crecimiento de *Zea mays* L. “maíz”

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN
BIOLOGÍA - MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

APROBADA POR:

Mblga. María Silva García

PRESIDENTA



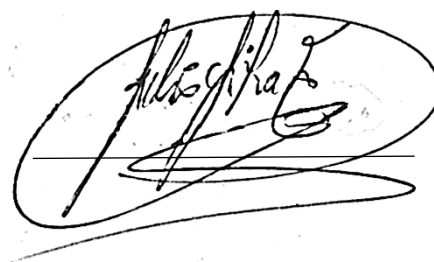
Dra. Consuelo Rojas Idrogo

SECRETARIA



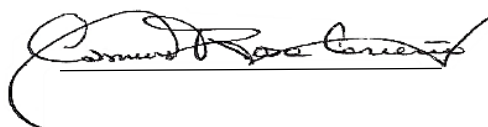
Lic. César Silva Estela

VOCAL



Dra. Carmen Carreño Farfán

ASESORA



LAMBAYEQUE, PERÚ

2023

Bacterias fijadoras de nitrógeno en *Saccharum officinarum* L. "caña de azúcar" y su potencial como promotoras de crecimiento de *Zea mays* L. "maíz"

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%

INDICE DE SIMILITUD

19%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

hdl.handle.net

Fuente de Internet

13%

2

repositorio.unprg.edu.pe

Fuente de Internet

1%

3

docplayer.es

Fuente de Internet

1%

4

repositorio.unal.edu.co

Fuente de Internet

<1%

5

repositorio.inia.gob.pe

Fuente de Internet

<1%

6

repositorio.unprg.edu.pe:8080

Fuente de Internet

<1%

7

repositorio.ucv.edu.pe

Fuente de Internet

<1%

8

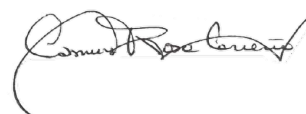
ftp.academicjournals.org

Fuente de Internet

<1%

Dra. Carmen Carreño Farfán

9	reunionescientificas2021.inifap.gob.mx	Fuente de Internet	<1 %
10	dergipark.org.tr	Fuente de Internet	<1 %
11	repositorio.utc.edu.ec	Fuente de Internet	<1 %
12	www.scielo.org.mx	Fuente de Internet	<1 %
13	repositorio.unjfsc.edu.pe	Fuente de Internet	<1 %
14	doi.org	Fuente de Internet	<1 %
Dra. Carmen Carreño Farfán			
15	repositorio.uta.edu.ec	Fuente de Internet	<1 %
16	Submitted to Universidad Autónoma de Ica	Trabajo del estudiante	<1 %
17	repositorio.unap.edu.pe	Fuente de Internet	<1 %
18	www.teses.usp.br	Fuente de Internet	<1 %
19	1library.co	Fuente de Internet	<1 %
20	avepagro.org.ve	Fuente de Internet	<1 %



Dra. Carmen Carreño Farfán

21

digibug.ugr.es

Fuente de Internet

<1 %

22

repositorio.chapingo.edu.mx

Fuente de Internet

<1 %

23

"Plant Microbiome for Plant Productivity and Sustainable Agriculture", Springer Science and Business Media LLC, 2023

Publicación

<1 %

24

Submitted to Universidad San Francisco de Quito

Trabajo del estudiante

<1 %

25

www.frontiersin.org

Fuente de Internet

<1 %



Dra. Carmen Carreño Farfán

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo




Recibo digital


Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Miriam Liliana Flores Diaz Ana Lucia Tocto Tomapasca
Título del ejercicio: Tesis pregrado
Título de la entrega: Bacterias fijadoras de nitrógeno en *Saccharum officinarum* L...
Nombre del archivo: 13_JUNIO_PARA_TURNITIN.docx
Tamaño del archivo: 16.08M
Total páginas: 59
Total de palabras: 12,762
Total de caracteres: 74,880
Fecha de entrega: 13-jun.-2023 06:18p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega... 2115530613



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y
PARASITOLOGÍA



Bacterias fijadoras de nitrógeno en *Saccharum officinarum* L. "caña de azúcar" y su potencial como promotoras de crecimiento de *Zea mays* L. "maíz"

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN
BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA- PARASITOLOGÍA

PRESENTADA POR:

Bach. Miriam Liliana Flores Diaz
Bach. Ana Lucia Tocto Tomapasca

LAMBAYEQUE, PERÚ
2023

Dra. Carmen Carreño Farfán



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



ACTA DE SUSTENTACIÓN

ACTA DE SUSTENTACION N° 003-2023-FCCBB-UI



Siendo las 7:30 horas del día 28 de junio de 2023, se reunieron los Miembros del Jurado evaluador de la tesis titulada **"Bacterias fijadoras de nitrógeno en *Saccharum officinarum* L. "caña de azúcar" y su potencial como promotoras de crecimiento de *Zea mays* L. "maíz"**, designados por Resolución N°015-2020-UI-FCCBB/D de fecha 14 de diciembre de 2019, con la finalidad de evaluar y calificar la sustentación de la tesis antes mencionada, conformada por los siguientes docentes:

Mblga. María Teresa Silva García
MSc. Consuelo Rojas Idrogo
Lic. Julio César Silva Estela
Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

Presidenta
Secretaria
Vocal
Asesora

Acto de sustentación fue autorizado por Resolución N° 154-2023-VIRTUAL-FCCBB/D, de fecha 27 de junio de 2023.

La Tesis presentada y sustentada por la **Bachiller ANA LUCIA TOCTO TOMAPASCA y la Bachiller MIRIAM LILIANA FLORES DIAZ** tuvo una duración de 30 minutos. Después de la sustentación y absueltas las preguntas y observaciones de los miembros del jurado; se procedió a la calificación respectiva, otorgándole el calificativo de (Excelente) (19.5) en la escala vigesimal.

Por lo que la Bachiller **ANA LUCIA TOCTO TOMAPASCA** y la Bachiller **MIRIAM LILIANA FLORES DIAZ** quedan **APTAS** para obtener el título profesional de Licenciada en Biología Microbiología - Parasitología, de acuerdo con la Ley Universitaria 30220 y la normatividad vigente de la Facultad de Ciencias Biológicas y la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Siendo las 8:32 se dio por concluido el presente acto académico, dándose conformidad al presente acto, con la firma de los miembros del jurado.

Firman

Mblga. María Teresa Silva García,
Presidente

Dra. Consuelo Rojas Idrogo,
Secretaria

Lic. Julio César Silva Estela,
Vocal

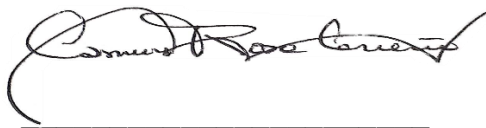
Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán
Asesora

CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD DE TESIS

Yo, Carmen Rosa Carreño Farfán, Asesor de Tesis de los bachilleres Miriam Liliana Flores Diaz y Ana Lucia Tocto Tomapasca, Titulada: Bacterias fijadoras de nitrógeno en *Saccharum officinarum* L. “caña de azúcar” y su potencial como promotoras de crecimiento de *Zea mays* L. “maíz”, luego de la revisión exhaustiva del documento constato que la misma tiene un índice de similitud de 19 % verificable en el reporte de similitud del programa Turnitin.

La suscrita analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Lambayeque, 26 de agosto de 2023



CARMEN ROSA CARREÑO FARFÁN

DNI:16494424
ASESOR

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	9
II.	DISEÑO TEÓRICO.....	12
	2.1 Antecedentes.....	12
	2.2 Bases teóricas.....	13
	2.2.1 <i>Saccharum officinarum</i> L. “caña azúcar”	15
	2.2.2 <i>Zea mays</i> L. “maíz”	16
III.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	18
	3.1 Diseño de contrastación de hipótesis.....	18
	3.2 Población y muestra.....	18
	3.3 Muestreo.....	18
	3.4 Caracterización fenotípica de bacterias endófitas diazotróficas aisladas de caña de azúcar.....	21
	3.5 Identificación de las características que demuestran <i>in vitro</i> promoción de crecimiento vegetal identificadas en las bacterias endófitas diazotróficas.....	24
	3.6 Comparación del efecto de bacterias endófitas diazotróficas en el crecimiento de <i>Zea mays</i> L. “maíz”	25
	3.7 Análisis estadísticos de los datos	26
IV.	RESULTADOS.....	27
	4.1 Características fenotípicas de bacterias endófitas diazotróficas aisladas de caña de azúcar, Pátapo 2022.....	27
	4.2 Características que demuestran <i>in vitro</i> promoción de crecimiento vegetal identificadas en las bacterias endófitas diazotróficas, Pátapo 2022.....	31
	4.3 Efecto de bacterias endófitas diazotróficas en el crecimiento de <i>Zea</i> <i>mays</i> L. “maíz”	38
V.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	45
VI.	CONCLUSIONES.....	51
VII.	RECOMENDACIONES.....	52
VIII.	REFERENCIAS.....	53
IX.	ANEXOS.....	60

Índice de tablas

Tabla 1.	Posición georeferencial de los puntos de muestreo de <i>Saccharum officinarum</i> L. en el distrito de Pátapo, 2022	20
Tabla 2.	Características físicas y químicas del suelo radicular de <i>Saccharum officinarum</i> L., Pátapo 2022.....	22
Tabla 3.	Características fenotípicas de los géneros identificados en bacterias endófitas diazotróficas aisladas de raíces y pesudotallos de <i>Saccharum officinarum</i> L., Pátapo 2022.....	34
Tabla 4.	Índice de solubilización y ácido indol acético producido por bacterias endófitas diazotróficas aisladas de raíces y pseudotallos de <i>Saccharum officinarum</i> L., Pátapo 2022.....	37
Tabla 5.	Rango de la altura de plantas de <i>Zea mays</i> L. inoculadas con 60 bacterias endófitas diazotróficas de <i>Saccharum officinarum</i> L.....	39
Tabla 6.	Rango de la biomasa aérea de plantas de <i>Zea mays</i> L. inoculadas con 60 bacterias diazotróficas de <i>Saccharum officinarum</i> L.....	40
Tabla 7.	Altura de plantas de <i>Zea mays</i> L. por efecto de la aplicación de bacterias endófitas diazotróficas y fertilizante químico	43
Tabla 8.	Peso de la biomasa aérea de plantas de <i>Zea mays</i> L. por efecto de la aplicación de bacterias endófitas diazotróficas y fertilizante químico.....	44

Índice de figuras

Figura 1. Plantas de <i>Saccharum officinarum</i> L. variedad RB 72-454 en el distrito de Pátapo, 2022.	19
Figura 2. Tratamientos en la determinación del efecto de bacterias diazotróficas en <i>Zea mays</i> L., Pimentel 2022.....	19
Figura 3. Ubicación geográficamente del distrito de Pátapo, en Lambayeque, 2022 https://earth.google.com/web/search/Patapo,+Chiclayo/@-6.7354457,79.63343375,374.51428394a,5692.56235355,35y,0h,45t,0r	20
Figura 4. Fragmentos del tallo de <i>Saccharum officinarum</i> L. Pimentel.....	23
Figura 5. Siembra de jugo celular por doble puntura en medio semisólido sin nitrógeno, Pimentel 2022.	23
Figura 6. Película blanca horizontal formada bajo en el medio de cultivo semisólido por bacterias endófitas diazotróficas aisladas de raíces y pseudotallos de <i>Saccharum officinarum</i> L., Pátapo 2022.....	28
Figura 7. Película blanco-cremosa en forma de paraguas formada en el medio de cultivo semisólido por bacterias endófitas diazotróficas aisladas de raíces pseudotallos de <i>Saccharum officinarum</i> L., Pátapo 2022.....	28
Figura 8. Bacterias endófitas diazotróficas observadas después de la siembra, primer y segundo subcultivo, aislamiento y tercer subcultivo en medio sin nitrógeno, Pátapo 2022.....	29
Figura 9. Porcentaje de bacterias endófitas diazotróficas aisladas de raíces y pseudotallos de <i>Saccharum officinarum</i> L, Pátapo 2022.....	30
Figura 10. Porcentaje de bacterias endófitas diazotróficas según el nudo de procedencia en pseudotallos de <i>Saccharum officinarum</i> L, Pátapo 2022.....	30
Figura 11. Observación microscópica (1000 x) de bacterias Gram negativas aisladas de raíces de <i>Saccharum officinarum</i> L., Pátapo 2022. ...	32
Figura 12. Observación microscópica (1000 x) de bacterias Gram negativas aisladas de pseudotallos de <i>Saccharum officinarum</i> L., Pátapo 2022.....	32
Figura 13. Colonias de <i>Gluconacetobacter</i> sp. aisladas en agar papa dextrosa, Pátapo 2022.....	33

Figura 14. Halos de solubilización de fosfato en agar NBRIP por <i>Azospirillum</i> sp. 36 (a), <i>Burkholderia</i> sp.5 (b), <i>Herbaspirillum</i> sp.21 (c) y <i>Gluconacetobacter</i> sp. 6 (d).....	36
Figura 15. <i>Zea mays</i> L., 20 días después de la inoculación de bacterias endófitas diazotróficas fijadoras de nitrógeno.....	39
Figura 16. <i>Zea mays</i> L., 40 días después de la inoculación de bacterias endófitas diazotróficas (a) <i>Gluconacetobacter</i> sp.6, (b) <i>Gluconacetobacter</i> sp.2, (c) <i>Herbaspirillum</i> sp. 21, (d) <i>Azospirillum</i> sp. 36, (e) <i>Burkholderia</i> sp. 5	40
Figura 17. Incremento (%) en la altura de plantas de <i>Zea mays</i> L. a los 10 días (a), 20 días(b), 30 días(c), 40 días(d) y biomasa aérea fresca (e) seca(f) después de la aplicación de bacterias endófitas diazotróficas y fertilizante químico (T1= Químico, T2= <i>Azospirillum</i> sp.36, T3= <i>Burkholderia</i> sp.5, T4= <i>Herbaspirillum</i> sp. 21, T5= <i>Gluconacetobacter</i> sp.6, T6= <i>Gluconacetobacter</i> sp.22)	41

RESUMEN

El nitrógeno es un factor limitante en los cultivos agrícolas como *Zea mays* L. “maíz”. El objetivo de la investigación fue determinar el potencial como promotoras de crecimiento en maíz de las bacterias endófitas diazotróficas fijadoras de nitrógeno aisladas de *Saccharum officinarum* L. “caña de azúcar”. Éstas se aislaron de raíces y pseudotallos de caña de azúcar variedad RB 72-454 (Brasileira) de 9 – 12 meses, se investigaron las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento de plantas y en un ensayo con un diseño completamente aleatorio se comparó el efecto de cinco bacterias endófitas (T2 -T6) un testigo químico (T1) y un testigo (T0) en el crecimiento y rendimiento de maíz INIA 619- Megahíbrido. Se aislaron 366 bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno entre las que se identificaron los géneros *Gluconacetobacter* (22%), *Bacillus* (21%), *Azospirillum* (19%), *Herbaspirillum* (16%) y *Burkholderia* (14%). El 55 % de bacterias endófitas solubilizaron fosfato (índices de 0,69 – 4,12) y produjeron ácido indol acético (6,13 – 70,45 ppm). *Burkholderia* sp.5, *Herbaspirillum* sp.21, *Gluconacetobacter* spp.6 y 22 y *Azospirillum* sp.36 aumentaron la altura de las plantas (5,02 - 41,05 %), la biomasa aérea fresca (30,99 -76,99%) y seca (6,41 - 28,20 %) en comparación con el testigo químico. Se demostró la promoción de crecimiento del maíz por las bacterias endófitas diazotróficas aisladas de caña de azúcar.

Palabras clave: Bacterias endófitas diazotróficas, caña de azúcar, promoción de crecimiento, maíz.

ABSTRACT

Nitrogen is a limiting factor in agricultural crops such as *Zea mays* L. "maize". The objective of the research was to determine the potential of nitrogen-fixing diazotrophic endophytic bacteria isolated from *Saccharum officinarum* L. "sugarcane" as growth promoters in maize. These were isolated from roots and pseudostems of sugarcane variety RB 72-454 (Brazilian) aged 9 - 12 months, the characteristics that show in vitro plant growth promotion were investigated and in a completely randomized design trial the effect of five endophytic bacteria (T2 - T6), a chemical control (T1) and a control (T0) on the growth and yield of INIA 619- Megahíbrido maize were compared. A total of 366 nitrogen-fixing endophytic bacteria were isolated, among which the genera *Gluconacetobacter* (22%), *Bacillus* (21%), *Azospirillum* (19%), *Herbaspirillum* (16%) and *Burkholderia* (14%) were identified. Fifty-five percent of endophytic bacteria solubilized phosphate (ratios of 0.69 - 4.12) and produced indole acetic acid (6.13 - 70.45 ppm). *Burkholderia* sp.5, *Herbaspirillum* sp.21, *Gluconacetobacter* spp.6 and 22 and *Azospirillum* sp.36 increased plant height (5.02 - 41.05 %), fresh (30.99 -76.99%) and dry (6.41 - 28.20 %) aerial biomass compared to the chemical control. Growth promotion of maize by diazotrophic endophytic bacteria isolated from sugarcane was demonstrated.

Key words: Diazotrophic endophytic bacteria, sugarcane, growth promotion, maize.

I. INTRODUCCIÓN

El nitrógeno (N_2) es indispensable para los seres vivos; no obstante, en su mayoría es un factor que limita los cultivos agrícolas como *Zea mays* L. “maíz”, por lo que se requiere la aplicación de fertilizantes químicos. Estos productos incrementan el rendimiento (Espinoza et al., 2019) y por tanto favorecen la disponibilidad de alimentos en el mundo; sin embargo, la inadecuada aplicación disminuye la rentabilidad para el agricultor e impacta el suelo, con alteración del pH, la estructura y microbiota, así como también acidificación (González, 2019), acumulación de metales pesados como el cadmio (Mendoza et al., 2021) y arsénico (Ahmed et al., 2017) y pérdida de nutrientes (García et al., 2020). También afectan el agua, al favorecer la eutroficación de las aguas superficiales y contaminación de las aguas subterráneas (González, 2019) y el aire con la emisión de gases con efecto invernadero y lluvia ácida (Atikur y Dunfru, 2018).

El mayor consumo de fertilizantes químicos corresponde a los nitrogenados, tal que en 1960 se aplicaron 10,8 millones de toneladas métricas (TM), en el 2000 la cifra fue de 82 millones TM, en el 2014-2015 fue de 102,5 millones TM y para el 2050 se estiman 249 millones TM (González, 2019; Ahmed et al., 2017). La eficiencia de uso del fertilizante nitrogenado es de 30-50 % para la mayoría de las plantas, lo que significa que el 50-70 % no es utilizado, se pierde por escorrentía, lixiviación, volatilización, desnitrificación y además contamina el ambiente causando acidificación, salinización y toxicidad (Ahmed et al., 2017). Una vez incorporada en el suelo, la urea es hidrolizada por la ureasa microbiana hasta amoníaco y dióxido de carbono (CO_2), ambos gases con efecto invernadero y lluvia ácida. Las raíces absorben el nitrógeno como nitrato y el amonio y el nutriente no absorbido es inmovilizado por las arcillas, aumentando la acidez y la salinidad, que a su vez propicia la pérdida de nutrientes (García et al., 2020).

El amoníaco en altas concentraciones es oxidado (nitrificación) hasta nitrato que no es absorbido por el complejo de intercambio catiónico y por escorrentía llega a los cuerpos de agua superficial y causa eutroficación. En condiciones de lluvia o exceso de riego, los nitratos son lixiviados y contaminan las aguas subterráneas. Como producto de la desnitrificación de los nitratos se forma óxido nitroso, N_2O (García et al., 2021; Atikur y Dunfu, 2018), con un potencial de calentamiento 298 veces mayor que el dióxido de carbono (CO_2) y una vez que el amoníaco se volatiliza es un precursor de los óxidos de nitrógeno que debilitan la capa de ozono y luego caen como ácido nítrico, componente de la lluvia ácida (García et al., 2020).

El consumo de agua o vegetales con elevada concentración de nitratos afecta la salud de los humanos. Los nitratos por acción de la biota intestinal son reducidos a nitritos, que oxidan la hemoglobina a metahemoglobina (mínimo transporte de oxígeno) que produce hipoxia y el síndrome de los niños azules. Por su parte, los nitritos bajo condiciones ácidas del estómago interaccionan con las aminas formando N-nitroso con potencial teratogénico y carcinógeno. Asimismo, una alta concentración de nitrato reduce la absorción de iodo y se producen alteraciones hipertróficas en la glándula tiroides (Ahmed et al., 2017).

Los microorganismos fijadores de nitrógeno o diazotróficos reducen el nitrógeno molecular de la atmósfera hasta amoníaco, que es incorporado a los compuestos orgánicos nitrogenados (Bolívar et al., 2016). Los diazotróficos pueden ser endófitos y rizosféricos. Los endófitos tienen mayor disponibilidad de nutrientes y protección frente a las condiciones desfavorables (Imran et al., 2019). Las plantas de *Saccharum officinarum* L. “caña de azúcar” interactúan con las bacterias fijadoras de nitrógeno (Hossain et al., 2020), que les proveen hasta el 70 % de los requerimientos del macronutriente (Tortora et al., 2019). Estas bacterias también producen auxinas, solubilizan fosfatos y tienen actividad -aminociclopropano carboxilato desaminasa, ACCD (Mejia et al., 2022), relacionada con la tolerancia de las plantas a la salinidad (Ferreira et al., 2018), por lo que son consideradas promotoras de crecimiento en plantas (PGPR).

Las bacterias endófitas diazotróficas de caña de azúcar requieren ser aisladas y caracterizadas, para después inocularlas en cultivos agrícolas como el maíz. El problema de la investigación fue: ¿Cuál es el potencial como promotoras de crecimiento de *Z. mays* L. “maíz” de las bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno o diazotróficas de *S. officinarum* L. “caña de azúcar”? Se formuló la siguiente hipótesis: Las bacterias endófitas diazotróficas aisladas de *S. officinarum* L. “caña de azúcar” producen índoles, solubilizan fosfatos y promueven el crecimiento de *Z. mays* L. “maíz”.

El objetivo general de la investigación fue determinar el potencial como promotoras de crecimiento en maíz de las bacterias endófitas diazotróficas aisladas de caña de azúcar. Los objetivos específicos fueron: caracterizar fenotípicamente las bacterias endófitas diazotróficas aisladas de raíces y pseudotallos de caña de azúcar, identificar en las bacterias endófitas diazotróficas las características que demuestran *in vitro* promoción de crecimiento vegetal y comparar el efecto de cinco bacterias endófitas diazotróficas en el crecimiento de maíz INIA 619- Megahíbrido amarillo duro.

II. DISEÑO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

En la rizósfera y tejidos de caña de azúcar se han aislado e identificado bacterias diazotróficas de los géneros Burkholderia, Enterobacter, Klebsiella (Silva et al., 2018), Novosphingobium y Ochrobactrum (Antunes et al., 2022), Paraburkholderia (Alves et al., 2017), Pseudomonas (Li et al., 2017) y Azospirillum (Tortora et al., 2019). También se han identificado especies de Achromobacter, Bacillus, Herbaspirillum, Pantoea, Paenibacillus, Rhizobium, Serratia, Sphingomonas, Escherichia, Rhodococcus, Stenotrophomonas, Xanthomonas, Saccharum, Ideonella, Kasokonia, Bradyrhizobium, Azoarcus, Pleomorphonas, Sinorhizobium y Exophiala (Singh et al., 2022).

El número y género de bacterias diazotróficas reportadas en caña de azúcar varían según la muestra de aislamiento, técnica utilizada y cultivos o especies investigadas. En las hojas, tallos y raíces se aislaron bacterias endófitas cuya diazotrofia se verificó mediante la prueba de reducción de acetileno (ARA). Se obtuvieron 89 aislamientos entre los que el 71 % correspondió a bacterias Gram negativas y 29 % a Gram positivas y a nivel molecular se identificaron los géneros Novosphingobium y Ochrobactrum (Antunes et al., 2022). En los tejidos y en el suelo de la rizósfera se aislaron bacterias diazotróficas en medios carentes de nitrógeno y a nivel molecular se identificaron los géneros Azospirillum (Tortora et al., 2019), Burkholderia, Klebsiella y Enterobacter (Rojas et al., 2015). A su vez, en el suelo rizosférico se aislaron bacterias diazotróficas en cuatro medios de cultivo y se identificó el género Pseudomonas (Li et al., 2017). En raíces, tallos y hojas de cinco especies de caña de azúcar (*S.officinarum*, *S.barberi*, *S.robustum*, *S.spontaneum* y *S.sinense*) se analizó la diversidad de microorganismos con el gen *nif H* y también se realizaron aislamientos de las bacterias en medios semisólidos sin nitrógeno con 5 % de sacarosa. El gen *nif H* se determinó en 319 766 unidades taxonómicas operativas (OTUs) y se identificaron 56 géneros y 94 especies. A su vez, mediante la técnica del medio de cultivo se obtuvieron 194 morfotipos, entre los que se identificaron 19 géneros y 42 especies (Singh et al., 2022).

Las bacterias diazotróficas presentan diversos mecanismos mediante los cuales promueven el crecimiento de las plantas. Entre éstos se mencionan la solubilización de fosfatos (Singh et al., 2020), producción de ácido indol acético (Tortora et al., 2019), sideróforos, amonio, cianuro de hidrógeno (Li et al., 2017), giberelinas, citoquininas (Aroumougame et al., 2020), actividad ACCD (Singh et al., 2020), inhibición de hongos (Singh et al., 2020) y bacterias (Michavila et al. 2022) que evidencian el potencial para el control biológico (Hoang et al., 2020; Michavila et al., 2022).

Las bacterias diazotróficas promueven el crecimiento de caña de azúcar, como lo reportaron Rojas et al. (2015); Muangthung et al. (2015); Li et al. (2017); Tortora et al. (2019); Singh et al. 2020) y Muhammad et al. (2021). Las bacterias endófitas diazotróficas también favorecen el crecimiento y rendimiento de otros cultivos agrícolas como *Zea mays* L. “maíz” como lo demostraron Oliveira et al. (2018); Mallé et al. (2020); Bidarkar y Murumkar. (2020); Duoc y Hiep. (2022). y Schultz et al. (2022). Las bacterias endófitas diazotróficas colonizan las raíces y tallos de caña de azúcar (Li et al., 2017), incrementan el índice de velocidad de brotación (Tortora et al., 2019); confieren tolerancia al estrés por sequía (Muhammad et al., 2021), incrementan la biomasa de raíces (22,7 %), brotes (30,6 %) y contenido de nitrógeno en raíces (13,7 %), brotes (20 %) y plántulas (17, 1 %) (Singh et al., 2020). En otros cultivos como maíz se ha demostrado incremento de la altura, longitud de la raíz, contenido de clorofila, número de hojas, biomasa, ancho de tallos (Schultz et al., 2022), peso de granos, número de mazorcas, diámetro de mazorcas, longitud de mazorcas y 20 – 55 % de rendimiento (Contreras et al., 2020).

2.2 Bases teóricas

La fijación biológica de nitrógeno o diazotrofia es realizada por los microorganismos denominados diazotróficos. Éstos presentan el complejo enzimático nitrogenasa, que cataliza la reducción del triple enlace que une los dos átomos de nitrógeno atmosférico para formar amonio, NH_3^+ (Bonilla et al., 2021). La diazotrofia puede ser realizada en simbiosis con las plantas como por ejemplo los rizobios y actinobacterias del género *Frankia*. También pueden fijar nitrógeno bacterias que colonizan la superficie radicular o ingresan a los tejidos

como endófitos facultativos: como *G. diazotrophicus*, *Herbaspirillum* spp., *Azoarcus* spp. y *Burkholderia* spp. (Velasco et al., 2020).

Las bacterias endófitas colonizan los tejidos de las plantas, pero no se encuentran en células especializadas como las endosimbiontes. Una bacteria es considerada endófitas cuando se aísla de tejidos desinfectados superficialmente y se le observa dentro de los tejidos vegetales (observación microscópica). Cuando no existe la observación se aplica el término endófito putativo (Bonilla et al., 2021). Las bacterias endófitas tienen ventajas competitivas sobre las bacterias rizosféricas: mayor disponibilidad de nutrientes y protección frente a las condiciones desfavorables y menor competencia, puesto que la población de bacterias endófitas es menor que la de rizosféricas. Asimismo, el interior de los tejidos, bajo en oxígeno favorece la actividad de la nitrogenasa responsable de la reducción o fijación del nitrógeno (Imran et al., 2019).

Gluconacetobacter diazotrophicus es una bacteria diazotrófica, aislada por primera vez en caña de azúcar. La mejor fuente de carbono para su crecimiento es la sacarosa en alta concentración (10 %). Produce sideróforos, ácido indol acético y giberelinas, solubiliza fosfatos y presenta antagonismo a fitopatógenos (Saranraj et al., 2021). *G. diazotrophicus* ha sido caracterizada como promotora de crecimiento en *Daucus carota* L. “zanahoria” y *Beta vulgaris* L. “remolacha” (Ríos et al., 2019) y es capaz de sobrevivir después de la inoculación en una diversidad de cultivos agrícolas, incluyendo *Sorghum* sp. “sorgo”, *Z. mays* L. “maíz” y *Gossypium* sp. “algodón” (Lovaisa et al., 2018).

El género *Burkholderia* agrupa bacterias fijadoras de nitrógeno, anteriormente identificadas como *Pseudomonas cepacia* y *Pseudomonas* sp. Su árbol filogenético separa un grupo conformado por patógenos de plantas, animales y hombres y los patógenos oportunistas del complejo *B. cepacia*, así como también un segundo grupo constituido por especies no patógenas al hombre que incluyen rizosféricas, endófitas y simbioses. Entre las bacterias endófitas se consideran *B. tropica*, *B. kururiensis*, *B. unamae*, *B. silvatlantica*, *B. phytofirmans*, y *B. acidipaludis*. A su vez, *B. tropica* aislada del suelo rizosférico, tallos y raíces de caña de azúcar es una bacteria diazótropa que solubiliza fosfatos, produce exopolisacáridos y sideróforos y presenta actividad antagónica a hongos y nemátodos (Sandana et al., 2020).

2.2.1 *Saccharum officinarum* L. “caña de azúcar”

En la caña de azúcar se diferencian cuatro etapas de crecimiento: fase de establecimiento (germinación y emergencia) en plantación o en rebrote (30 días), achicamiento o reposo fisiológico (50 días), crecimiento rápido (180 días) y maduración y cosecha con una duración de 60 días (Dancé y Sáenz, 2015). La fertilización de la caña de azúcar es determinante para lograr un rendimiento rentable. La producción de 100 t de tallos por hectárea requiere 70 - 110 kg de nitrógeno por hectárea. El primer abonamiento con nitrógeno (urea) se realiza a los 30 - 45 días después de la siembra y el segundo abonamiento desde los 60 hasta los 90 días e incluso hasta los 120 días después de la siembra para completar la dosis requerida (Cherlinka et al., 2022).

Las plantas de la variedad RB 72-454 (Brasileira) de caña de azúcar tienen tallos erectos, gruesos de color verde morado con visos amarillentos y las hojas son medianas. Su floración es escasa y presenta buena adaptación en los ambientes de bajo potencial de producción, principalmente en suelos de textura arenosa. Esta variedad de caña tiene resistencia a la roya y al carbón de caña, su rendimiento es de 98,89 t de caña /ha/ año con un contenido de 13,20 % de sacarosa a los 18 meses (Instituto Nacional de Innovación Agraria [INIA], 2014).

El crecimiento y rendimiento de la variedad RB 72-454 están influenciados por muchos factores ambientales, pero la temperatura y precipitación son los más influyentes (Gurski et al., 2021). El rango de temperatura requerido es de 30 – 34 °C y cuando la temperatura disminuye se incrementa el contenido de sacarosa. El promedio ideal de precipitación depende de la etapa en la que se encuentran las plantas, durante el crecimiento la planta necesita mayor cantidad de agua y en la maduración el requerimiento de agua es más reducido (Espinoza, et al., 2019).

2.2.2 *Zea mays* L. “maíz”

El maíz es una gramínea anual con mecanismo fotosintético C₄. Las plantas son herbáceas, con raíces primarias (fasciculadas) y secundarias (adventicias), tallos tipo caña, hojas lanceoladas abrazadas al tallo por vainas con inflorescencias masculinas y femeninas. La inflorescencia femenina o mazorca se desarrolla en las yemas axilares de las hojas y la masculina o panoja en el ápice de la planta. La falta de nitrógeno retrasa el desarrollo en la fase vegetativa como la fase reproductiva del maíz. El momento crítico de asimilación de nitrógeno se presenta antes de la emisión de los estigmas o período de activo crecimiento vegetativo. La deficiencia de nitrógeno reduce la biomasa y por tanto la producción de fotoasimilados disponibles (Montoro y Ruiz, 2017).

El maíz tiene demandas nutricionales altas, especialmente de nitrógeno (N), potasio (K) y fósforo (P), así como también las plantas necesitan otros elementos en menor proporción como el calcio, magnesio, azufre, zinc, boro, manganeso, hierro, cobre, cloro y molibdeno. Se ha estimado que la producción de 1 tonelada de granos de maíz requiere 20,4 kg de nitrógeno; 8,5 kg de fósforo y 22,3 kg de potasio y 13 mg a 6 kg de diversos micronutrientes; no obstante, la fórmula N, P, K varía según la fertilidad del suelo, la variedad o el híbrido (INIA, 2020).

Las plantas de maíz amarillo duro se adaptan a diversos suelos; con un mayor desarrollo en suelos francos, franco-arcilloso-arenosos y franco-arcillosos, con alta humedad. Su rendimiento es mayor en ambientes templados y subtropicales con altas temperaturas en el día y frescas en las noches. La fotosíntesis y el desarrollo es muy lento a 10 °C y la temperatura óptima es de 32 - 35 °C. Temperaturas superiores a 38 °C reducen la formación del grano y temperaturas menores a 15,6 °C retrasan en forma significativa la floración y madurez (INIA, 2020). El maíz INIA 619- Megahíbrido es un híbrido simple de maíz amarillo duro obtenido en el Instituto Nacional de Innovación Agraria (Programa Nacional de Innovación Agraria en Maíz). El híbrido presenta alto potencial de rendimiento (14 tha⁻¹), tolera las plagas, enfermedades y se adapta en los valles de la costa y selva (INIA, 2014).

2.3 Bases conceptuales: Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Indicadores	Unidad
Crecimiento de maíz INIA 619-Megahíbrido (Dependiente)	Incremento en la altura y rendimiento de la planta en condiciones favorables de T°, humedad, radiación solar etc. (Díaz et al., 2023)	Altura Biomasa fresca y seca aérea Biomasa fresca y seca radicular	cm g g
Bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno (Independiente)	Bacterias que colonizan los tejidos de las plantas y pueden reducir el nitrógeno hasta amoníaco mediante la actividad del complejo enzimático. (Bonilla et al., 2021)	Halo de solubilización Índice de solubilización Ácido indol acético	mm -- ppm

III. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Diseño de contrastación de hipótesis

En la investigación de tipo explicativa con el diseño experimental completamente aleatorio (DCA), se determinó el efecto de cinco bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno (BEFN) o diazotróficas en el crecimiento de maíz INIA 619-Megahíbrido amarillo duro. Los tratamientos fueron testigo (T0), testigo químico (T1) y BEFN 1,2,3,4,5 (T2 - T6).

3.2 Población y muestra

En la investigación descriptiva la población correspondió a las plantas de caña de azúcar variedad RB 72-454 (Brasileira) cultivadas en el distrito de Pátapo (cruce de Las Canteras) y se investigaron 25 muestras no probabilísticas colectadas en mayo - julio de 2022. En la investigación tipo explicativa la población y muestra de estudio no probabilísticas y por conveniencia fueron 21 plantas de maíz, distribuidas en siete tratamientos, tres repeticiones y tres plantas en cada repetición (Figuras 1, 2).

3.3 Muestreo

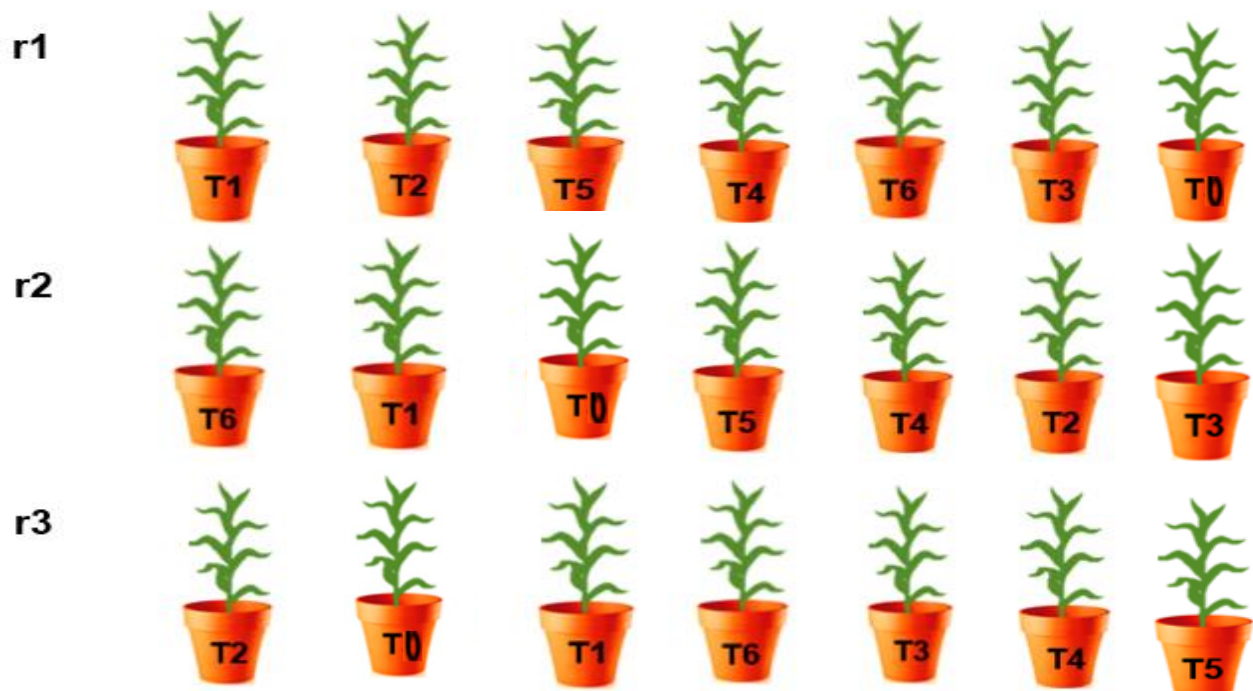
Las pseudotallos y raíces de caña de azúcar se colectaron en el cruce Las Canteras, distrito de Pátapo, Lambayeque (Figura 3, tabla 1). Pátapo es uno de los 20 distritos de Chiclayo y está ubicado a 6°44' 07'' latitud sur y 79°38'04'' longitud oeste (Wikipedia, 2017). La toma de muestras de pseudotallos y raíces se realizó en plantas de caña de azúcar con similar fenotipo y una altura promedio de 1,5 – 2,5 m. A 0,2 cm de la base del tallo se retiró la capa superficial del suelo, hasta encontrar las raíces y cuidadosamente se extrajeron las plantas. Con un machete se eliminaron las hojas y los pseudotallos y raíces se acondicionaron en bolsas de polietileno identificadas y se trasladaron al laboratorio del Centro de Investigación Para El Fomento Sustentable (CIFOS) en Pimentel.

Figura 1

Plantas de Saccharum officinarum L. variedad RB 72-454 en el distrito de Pátapo, 2022.

**Figura 2**

Tratamientos en la determinación del efecto de bacterias diazotróficas en Zea mays L., Pimentel 2022.



T0: Testigo

T1: Testigo químico

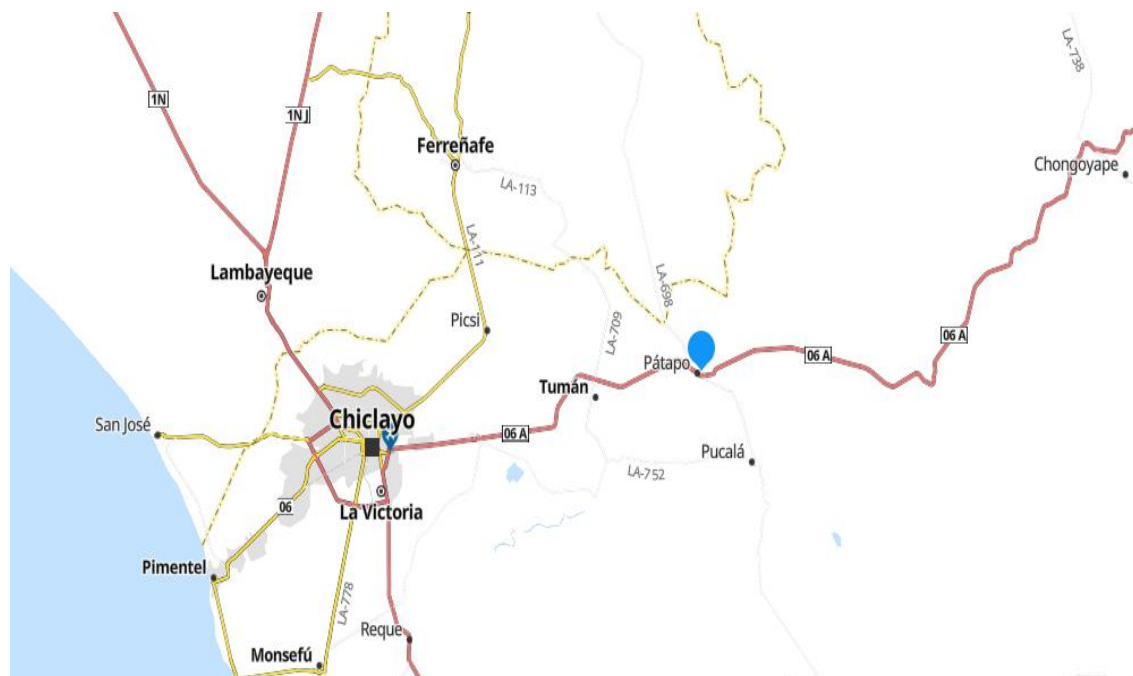
T2 – T6: Bacterias diazotróficas

Figura 3

Ubicación geográficamente del distrito de Pátapo, en Lambayeque, 2022.

<https://earth.google.com/web/search/Patapo,+Chiclayo/@-6.7354457,79.63343>

375,374. 51428394^a,5692.56235355d,35y,0h,45t,0r.

**Tabla 1**

Posición georeferencial de los puntos de muestreo de *Saccharum officinarum* L., distrito de Pátapo, 2022.

Muestras (N°)		Posición georeferencial		
01 - 05	17M 654828	UTM 9256637	114 m	
06 - 10	17M 654887	UTM 9256719	114 m	
11 - 15	17M 654921	UTM 9256831	115 m	
16 - 20	17M 654819	UTM 9256895	116 m	
21 - 25	17M 654819	UTM 9257002	116 m	

En el laboratorio se separaron las raíces de los pseudotallos, se lavaron y en el caso de las raíces se remojaron previamente por 2 horas para facilitar el desprendimiento del suelo. En simultáneo al muestreo de tejido en cada uno de los cinco puntos de muestreo se colectaron 18 kg de suelo radicular (de los cuales 88 kg se guardaron para la fase explicativa experimental de la investigación y 1 kg se utilizó para el análisis físico – químico en el Laboratorio Análisis de Suelos y Aguas) , Instituto Nacional de Innovación Agraria en el cual se determinó que el suelo fue ligeramente alcalino (pH 7,4) con baja salinidad (CE 2,3 milimhos/cm), textura franco arenosa y fertilidad deficiente con, niveles bajos de materia orgánica (1,23 %), fósforo (6,80 ppm) y potasio (102 ppm), así como un contenido medio de carbonato de calcio (2,30 %) (Tabla 2).

3.4 Caracterización fenotípica de bacterias endófitas diazotróficas aisladas de caña de azúcar

Las bacterias endófitas diazotróficas se aislaron de pseudotallos y raíces de caña de azúcar, ambos desinfectados (Corrales et al., 2020 modificado por los autores). En los pseudotallos se seleccionaron los cinco nudos siguientes a la base del tallo y el nudo del extremo terminal opuesto, con un cuchillo se cortaron fragmentos de 5 cm constituidos por el nudo y 2 cm de entrenudo hacia arriba y abajo del mismo y se depositaron en la base de placas de Petri previamente esterilizadas. A continuación, a los fragmentos del pseudotallo se les retiró la epidermis esclerosada o capa superficial, se fragmentaron (5 cm), se pesaron 5 g y se llevaron a frascos esterilizados (Figura 4).

La desinfección del tejido vegetal se realizó por lavado con agua destilada (50 mL) más detergente neutro (0,005 %) durante 1 minuto, enjuague por cuatro veces con agua destilada esterilizada (1 minuto por enjuague), agitación (15 minutos) en solución de fosfato de potasio $0,05\text{mol L}^{-1}$ (pH 7,0), inmersión (1 minuto) en alcohol 70 % y agitación (5 minutos) en hipoclorito de sodio (NaCl 5 % p/v) con Tween 80 %. El tejido vegetal se llevó a otros frascos para la inmersión en alcohol 70 % (1 minuto), agitación en solución tampón (15 minutos) y enjuague (cuatro veces) consecutivas en agua destilada esterilizada (Corrales et al., 2020). El tejido vegetal desinfectado se depositó en bolsas con cierre hermético (15x16cm), con un mortero se maceró hasta la obtención de jugo celular y de éste, se sembró una gota por (doble puntura) en los medios semisólidos carentes de nitrógeno (Figura 5) NFb (*Azospirillum* sp.), LGI (*Gluconacetobacter*

Tabla 2

Características físicas y químicas del suelo radicular de Saccharum officinarum L., Pátapo 2022

Características	Unidades	Valores	
pH		7,40	
Conductividad eléctrica	milimhos/ cm	2,30	
Materia orgánica	%	1,23	
Fósforo	ppm	6,80	
Potasio	ppm	102	
Carbonato de calcio	%	2,30	
Textura	Ao	%	65
	Lo	%	18
	Ar	%	17
Sodio intercambiable	meq/100 g	0,322	
Capacidad de intercambio catiónico	meq/100 g	12,866	
Porcentaje de sodio intercambiable	%	12,503	
Porcentaje de saturación	%	37,85	
Tipo de suelo		Normal	

*Laboratorio Análisis de Suelos y Aguas, Instituto Nacional de Innovación Agraria.

Figura 4

Fragmentos del tallo de Saccharum officinarum L. acondicionados para la desinfección, Pimentel 2022.

**FIGURA 5**

Siembra de jugo celular por doble puntura en medio semisólido sin nitrógeno, Pimentel 2022.



sp.), JMV *Burkholderia* sp. y JNFb (*Herbaspirillum* spp.). Las raíces se fragmentaron (5 cm) y se procesaron de manera similar a los tallos (Corrales et al., 2020).

Transcurrida la incubación, se seleccionaron los medios de cultivo con una película blanca en forma de cono invertido bajo la superficie y se realizaron dos cultivos en similares medios de forma consecutiva (primer y segundo subcultivo). Para el aislamiento de las bacterias microaerófilas, con la película se obtuvo una suspensión (solución salina), se sembró en los medios sólidos correspondientes y se incubó a 30 °C (48 horas). Las diversas colonias de las bacterias aisladas se cultivaron por tercera vez en el medio semisólido (tercer subcultivo) y luego en medio sólido respectivo. La identificación del género de las bacterias endófitas diazotróficas se realizó considerando características de morfología, bioquímica y fisiológica (Brenner et al., 2005; Corrales et al., 2020).

3.5 Identificación de las características que demuestran *in vitro* promoción de crecimiento vegetal identificadas en las bacterias endófitas diazotróficas

Se determinó el índice de solubilización de fosfato en agar NBRIP (fosfato tricálcico 1 g L⁻¹) mediante método descrito por Acosta et al. (2019) y se cuantificó el AIA producido mediante el método colorimétrico de Gordon y Weber (Li et al., 2022). Las tres bacterias de cada género identificadas, que presentaron ambas características de promoción de crecimiento vegetal investigadas y a la vez alcanzaron los mayores valores, se seleccionaron para continuar la investigación.

3.6 Comparación del efecto de bacterias endófitas diazotróficas en el crecimiento de *Zea mays* L. “maíz

En el ensayo, bajo condiciones de invernadero se comparó el efecto de bacterias endófitas diazotróficas (60 en una primera etapa y cinco bacterias en una segunda etapa) en el crecimiento de *Zea mays* L., maíz INIA 619-Megahíbrido. El diseño experimental utilizado fue completamente aleatorio (DCA) con 61 (primera etapa) y siete tratamientos (segunda etapa). En la primera etapa se incluyó un testigo con agua (no aplicado con bacterias: T0) y en la segunda etapa dos tratamientos correspondieron a los testigos con agua(T0) y fertilizante químico(T1) respectivamente. El fertilizante químico 160N: 100P: 60K kg ha^{-1} (Tufail et al., 2021) se aplicó como urea (46 % N), en forma fraccionada, 50 % a los 10 días después de la siembra(dds) y 50 % a los 25 dds, el fósforo como fosfato diamónico y el potasio como sulfato de potasio se aplicaron en simultáneo al nitrógeno: 10 dds (Tufail et al., 2021).

En el distrito de Pátapo, se recolectaron 88 kg de suelo que fue esterilizado en la autoclave dos veces a 121° C por 40 minutos (Tufail et al., 2021) y luego 25 kg se distribuyeron en 61 vasos de polipropileno (400 g por vaso) y 63 kg en 18 macetas de arcilla (3,5 kg por maceta). Las características físico-químicas del suelo experimental se determinaron en el Laboratorio Análisis de Suelos y Aguas, Instituto Nacional de Innovación Agraria. El cultivo de maíz inoculado con las bacterias endófitas diazotróficas se realizó en la casa de mallas de CIFOS durante octubre-noviembre de 2022 con una temperatura media de 17 a 23 C°.

Las semillas se trataron por 24 horas con el insecticida Acephato O,S – dimethyl acetylphoromidothiolate : Orthene 75PS (4,8 g kg $^{-1}$). Para la obtención del inóculo los caldos nutritivos cultivados con bacterias por 24 horas se centrifugaron, el sedimento se lavó y se resuspendió en solución salina hasta alcanzar la densidad óptica de 1 determinada en el espectrofotómetro a 600 nm (Waqar et al., 2022). El inóculo de cada bacteria se depositó sobre las semillas de maíz, a las semillas del testigo se le agregó agua y después de 2 horas éstas se sembraron en los vasos de polipropileno (Tufail et al., 2021).

En la primera etapa del ensayo a los 10 y 20 días después de la siembra (dds) se midió la altura (García et al., 2021). A los 20 días las plantas, se separaron las raíces del tallo y la biomasa aérea se deshidrató en la estufa a 60 °C por 3

días hasta alcanzar un peso constante determinado en una balanza de precisión (Notebook Series Digital Scale), se calcularon los porcentajes (%) de incremento y se seleccionaron los quince tratamientos cuyas plantas presentaron un vigor igual o mayor que el testigo con agua y a su vez la mayor altura respecto a los tratamientos bacterianos.

En la segunda etapa del ensayo la inoculación de las bacterias y la siembra de las semillas se realizó de forma similar a la primera etapa. Cada 10 días se determinó la altura de las plantas, a los 40 días éstas se extrajeron, las raíces se separaron del follaje, éste se deshidrató en la estufa (60 °C) por 3 días (Tchuisse et al., 2020) y el peso constante se registró en una balanza de precisión (Notebook Series Digital Scale). En las plantas inoculadas con las bacterias en las que se alcanzaron los mayores valores (altura y peso de biomasa aérea) y en el testigo químico se determinó el contenido de nitrógeno en el Laboratorio Análisis de Suelos y Aguas, Instituto Nacional de Innovación Agraria en Lambayeque.

3.7 Análisis estadístico de los datos

Los valores (altura y peso de la biomasa) registrados en las plantas de maíz en la primera etapa se analizaron con una estadística descriptiva (promedio y desviación estándar). Los valores de la altura (10 dds), peso de la biomasa área fresca y seca de las plantas de maíz registrados en la segunda etapa del ensayo y que presentaron normalidad en la prueba de Kolmogórov-Smirnov y homogeneidad de varianza en la prueba de Levene ($p > 0,05$) se analizaron con la prueba paramétrica de ANOVA y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Los valores que no presentaron normalidad ($p < 0,05$) como la altura a los 20, 30 y 40 días se analizaron con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Hernández et al., 2014). Los programas utilizados fueron Excel versión 2016 y Rstudio Versión 3.6.0.

IV. RESULTADOS

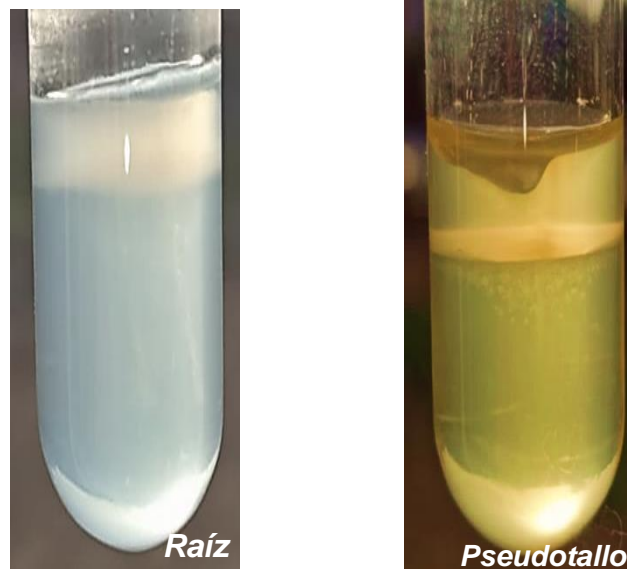
4.1 Características fenotípicas de las bacterias endófitas diazotróficas aisladas de caña de azúcar, Pátapo 2022

En 25 plantas de caña de azúcar variedad Brasileira de 9 – 12 meses, se procesaron 150 muestras de nudos de los pseudotallos (seis por pseudotallo) y 25 muestras de raíces en las cuales se obtuvieron 366 bacterias endófitas diazotróficas formadoras de una película blanquecina horizontal o blanco - cremosa en forma de paraguas, bajo la superficie del medio de cultivo semisólido sin nitrógeno (Figuras 6, 7). La película característica de las bacterias endófitas diazotróficas se observó en 100 tubos con medio de cultivo sin nitrógeno sembrados con las muestras de raíces (cuatro medios por raíz), en 50 tubos después del primer subcultivo y en 42 tubos después del segundo subcultivo. En las placas de Petri con medio sólido sin nitrógeno se aislaron uno – tres morfotipos de colonias y la película blanquecina se observó en 54 tubos después del tercer subcultivo (Figura 8).

Entre las 366 bacterias endófitas diazotróficas el 52,19 % (191) se aisló de raíces y el 47, 81 % (175) de pseudotallos. Las bacterias endófitas diazotróficas se aislaron de las raíces en los medios NFB (16,67 %), JMV (13,66 %), JNFB (16,39 %) y LGI-P (5,47 %). Las bacterias endófitas diazotróficas se aislaron de los nudos de los pseudotallos en los medios NFB (7,10 %), JMV (7,65 %), JNFB (8,47 %) y LGI-P (24,59 %). El mayor porcentaje de bacterias endófitas se aisló del quinto nudo, seguido de ultimo nudo y segundo nudo (Figuras 9, 10).

Figura 6

Película blanca horizontal formada bajo en el medio de cultivo semisólido por bacterias endófitas diazotróficas aisladas de raíces y pseudotallos de Saccharum officinarum L., Pátapo 2022.

**Figura 7**

Película blanco-cremosa en forma de paraguas formada en el medio de cultivo semisólido por bacterias endófitas diazotróficas aisladas de raíces y pseudotallos de Saccharum officinarum L., Pátapo 2022.

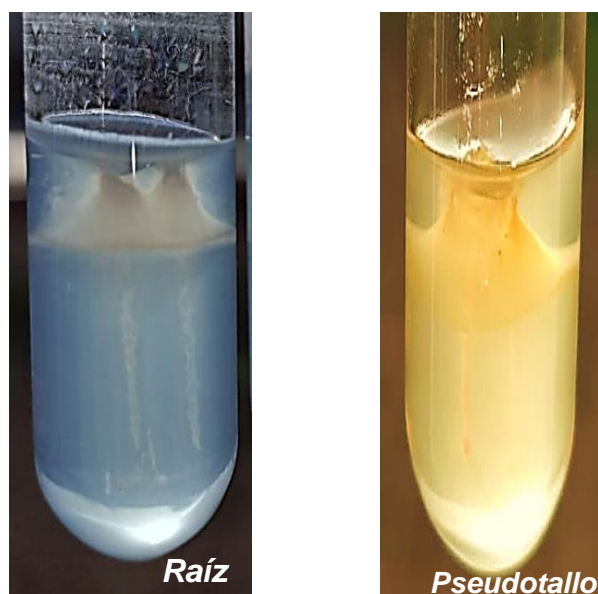


Figura 8

Bacterias endófitas diazotróficas observadas después de la siembra, primer y segundo subcultivo, aislamiento y tercer subcultivo en medio sin nitrógeno, Pátapo 2022.

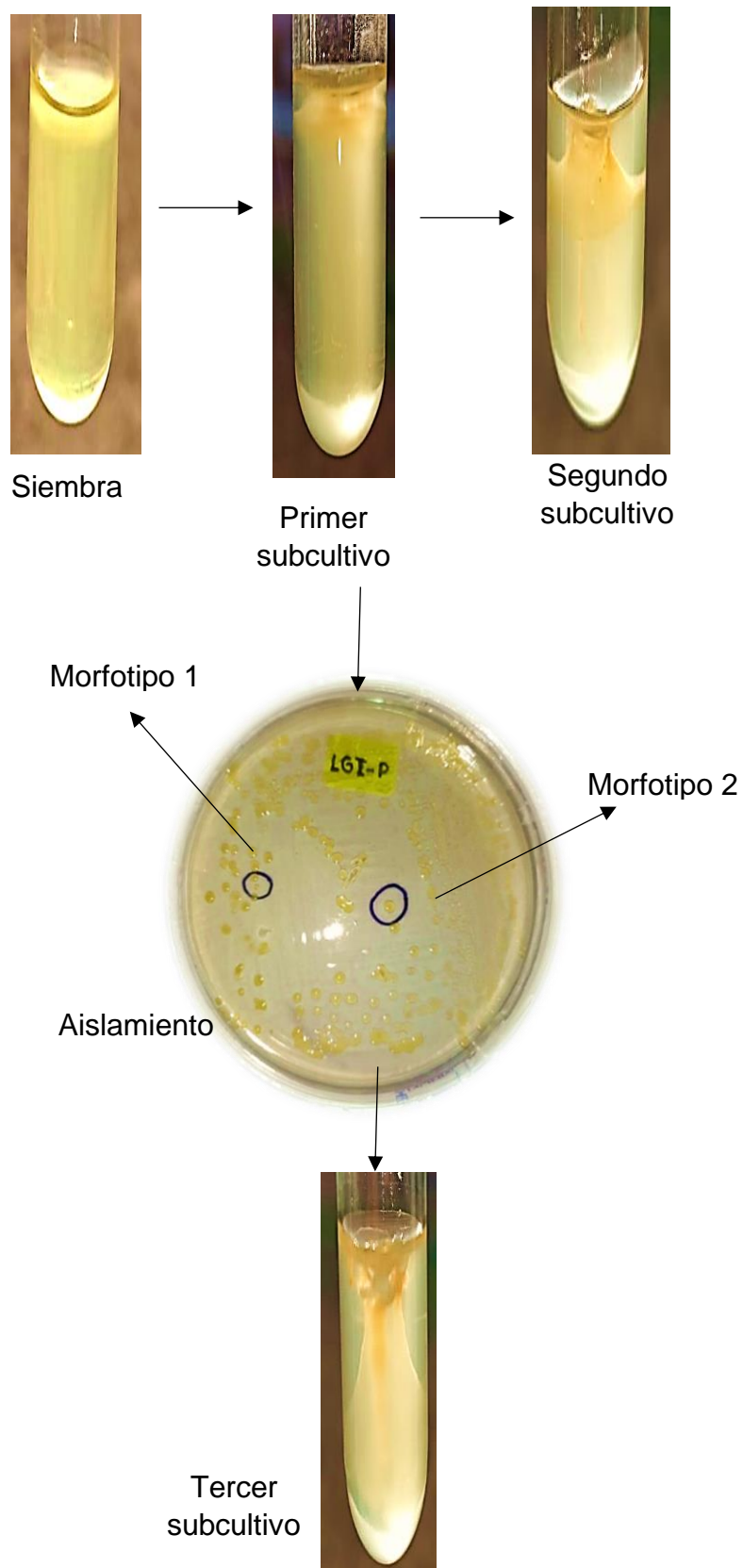
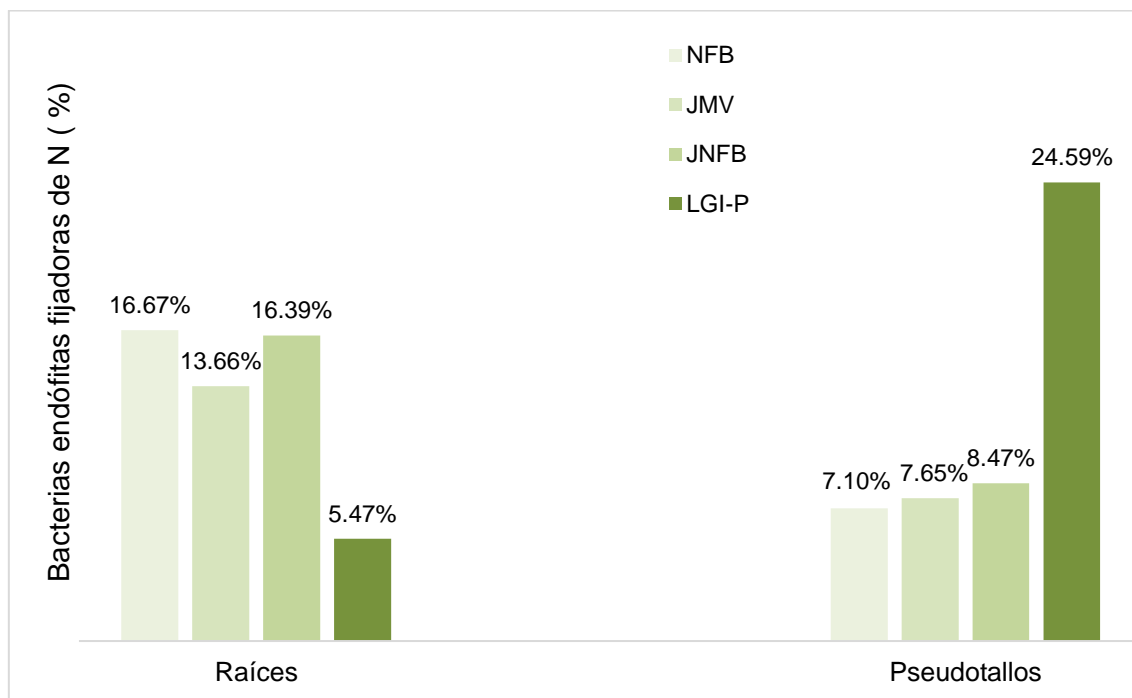
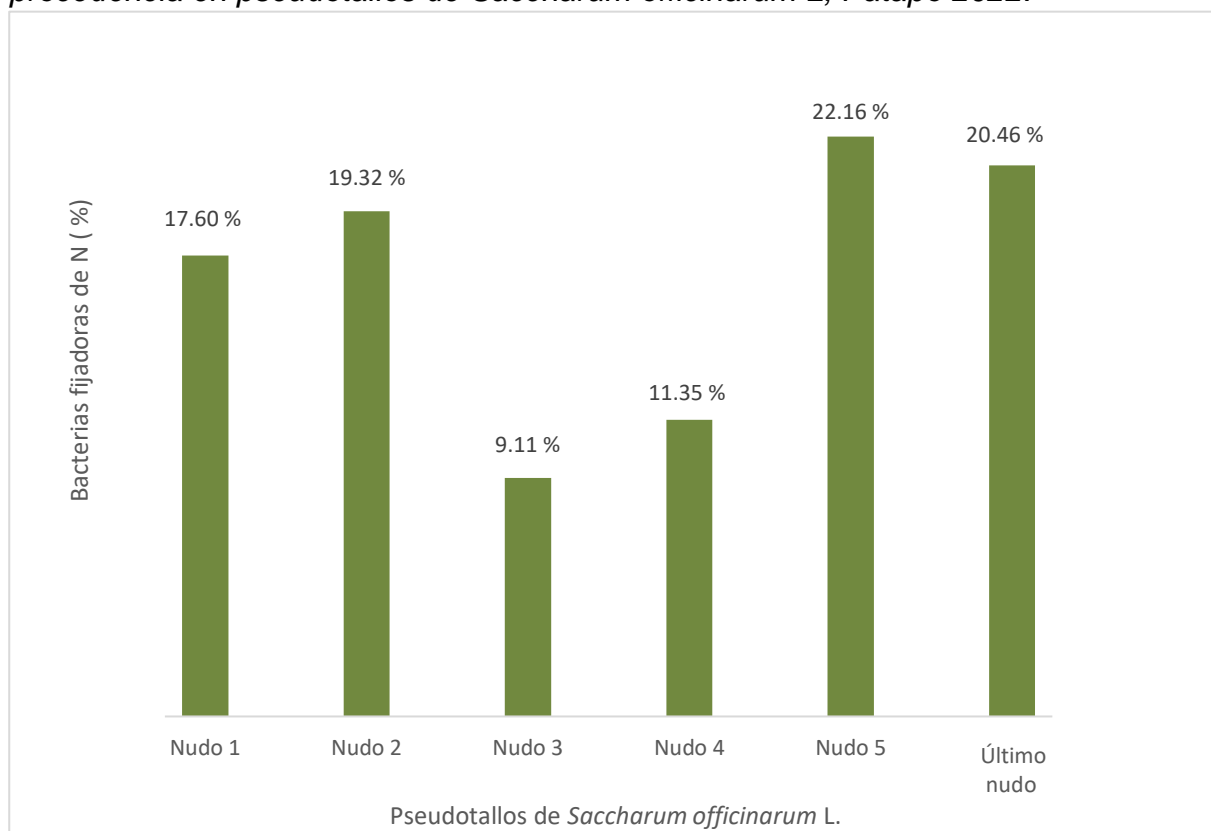


Figura 9

Porcentaje de bacterias endófitas diazotróficas aisladas de raíces y pseudotallos de Saccharum officinarum L, Pátapo 2022.

**Figura 10**

Porcentaje de bacterias endófitas diazotróficas según el nudo de procedencia en pseudotallos de Saccharum officinarum L, Pátapo 2022.



Las características fenotípicas investigadas identificaron el género en el 94 % (180) de bacterias aisladas de raíces, correspondientes a *Azospirillum* (26 %), *Burkolderia* (21 %), *Herbaspirillum* (23 %), *Gluconacetobacter* (5 %) y *Bacillus* (19 %). En el 89 % (155) de las bacterias aisladas de nudos de pseudotallos se identificaron los géneros *Azospirillum* (10 %), *Burkolderia* (6 %), *Herbaspirillum* (9 %), *Gluconacetobacter* (40 %) y *Bacillus* (24 %). En el 6 % de las bacterias aisladas de raíces y en el 11% aisladas de pseudotallos las características morfológicas y bioquímicas investigadas no identificaron los géneros *Azospirillum*, *Burkolderia*, *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter* y *Bacillus* (Figuras 11, 12, 13, tabla 3).

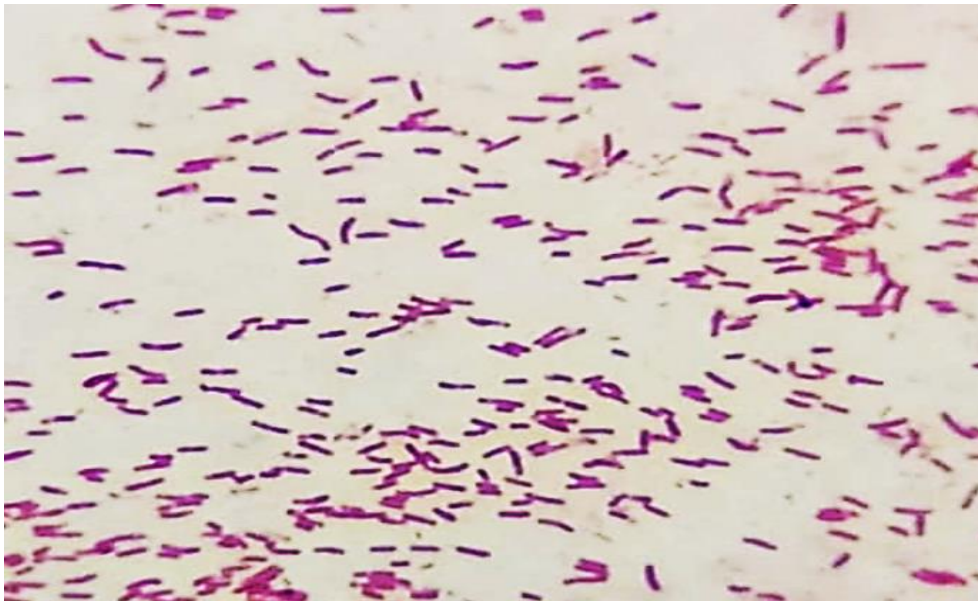
4.2 Características que demuestran *in vitro* promoción de crecimiento vegetal identificadas en las bacterias endófitas diazotróficas, Pátapo 2022.

El 62,29 % de las bacterias endófitas diazotróficas solubilizaron fosfato tricálcico con índices de solubilización de 0,50 – 4,44 (anexo 2). El 54,38 % de estas bacterias se aisló de raíces y el 45,62 % de pseudotallos (Figura 14). El 52,94 % de estas bacterias productoras de ácido indol acético se aislaron de raíces y el 47,06 % de pseudotallos (anexo 3).

El 55 % de las bacterias endófitas diazotróficas solubilizaron fosfato (0,69 – 4,12) y produjeron ácido indol acético (6,13 – 70,45). Entre estas bacterias (anexo 4) que presentaron las dos características de promoción de crecimiento vegetal se seleccionaron las tres de cada género identificado que alcanzaron los mayores valores en las características investigadas (Tabla 4).

Figura 11

Observación microscópica (1000 x) de bacterias Gram negativas aisladas de raíces de Saccharum officinarum L., Pátapo 2022.

**Figura 12**

Observación microscópica (1000 x) de bacterias Gram negativas aisladas de pseudotallos de Saccharum officinarum L., Pátapo 2022.

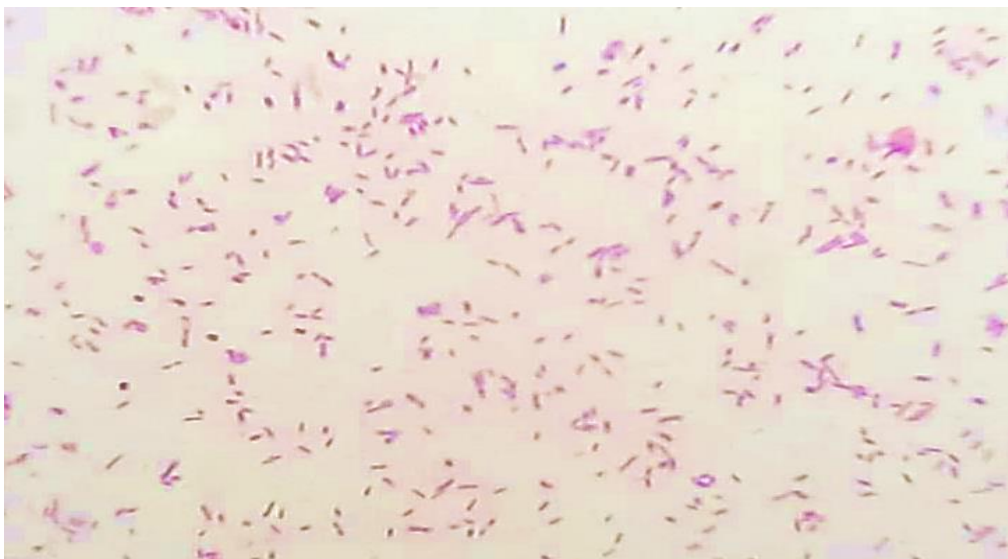


Figura 13

Colonias de Gluconacetobacter sp. aisladas en agar papa dextrosa, Pátapo 2022.



Tabla 3

Características fenotípicas de los géneros identificados en bacterias endófitas diazotróficas aisladas de raíces y pseudotallos de Saccharum officinarum L., Pátapo 2022

Características	<i>Azospirillum</i> sp.	<i>Burkholderia</i> sp.	<i>Herbaspirillum</i> sp.	<i>Gluconacetobacter</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.
Coloración de Gram	-	-	-	-	+
Células	Bacilos rectos o curvos	Bacilos rectos	Bacilos curvos	Bacilos pequeños	Bacilos rectos
Motilidad	+	+	+	+	+
Catalasa	+	+	+/-	+	+
Oxidasa	+	+	+	+	+
Requerimiento de biotina	-	-	-	-	-
Crecimiento en caldo NFb	-	-	-	-	-
Hidrólisis de urea	+	-	+/-	+	-
Hidrólisis de gelatina	-	+	-	-	+
Hidrólisis de almidón	-	-	-	+	+
Tolerancia a NaCl 3%	+/-	-	-	-	+
Reducción de nitrato a nitrito	+	-	-	-	+

..... continuación

Características	<i>Azospirillum</i> spp.	<i>Burkholderia</i> spp.	<i>Herbaspirillum</i> spp.	<i>Gluconacetobacter</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.
Gránulos de PHA	+	-	-	-	-
Descarboxilación de lisina	-	+	-	-	-
Crecimiento a 45 °C	-	-	-	-	+
Utilización de citrato de sodio.	-	-	-	-	+
Producción de acetoína (Prueba de Voges -Proskauer.	-	-	-	-	+
Crecimiento en agar PDA	-	-	-	+	-
Resistencia a Polimixina B (300 UI)	-	+	-	-	-
Crecimiento en agar semisólido con fuente de carbono:					
-Ácido málico	+	+	+	+	-
-Glucosa	-	+	+	+	+
-Manitol	-	+	+	+	+
-Sacarosa	-	+	+	+	-

*(+) positivo;(-) negativo

* Akhdar *et al.* (2019); Antunes *et al.* (2022); Ferreira *et al.* (2020); Gomes *et al.* (2018); Liu *et al.* (2020)* Muñoz y Sakurada (2018); Patiño *et al.* (2020); Verma y Chowdhurg (2019); Zhao *et al.* (2020)

Figura 14

Halos de solubilización de fosfato en agar NBRIP por Azospirillum sp. 36 (a), Burkholderia sp.5 (b), Herbaspirillum sp.21 (c) y Gluconacetobacter sp. 6 (d).

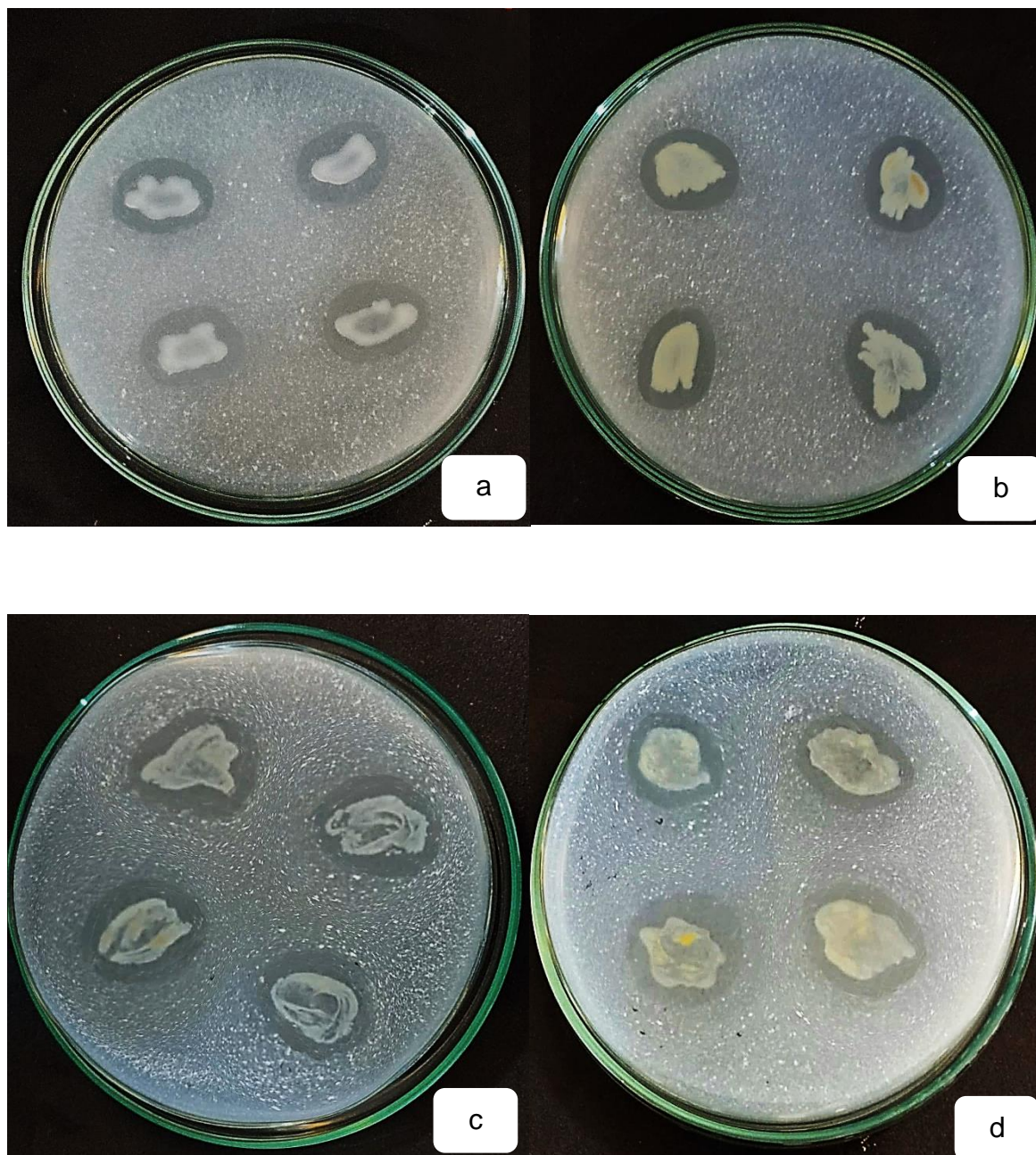


Tabla 4

Índice de solubilización y ácido indol acético producido por bacterias endófitas diazotróficas aisladas de raíces y pseudotallos de *Saccharum officinarum* L.,
Pátapo 2022

Bacterias diazotróficas	Procedencia	Índice de solubilización	Ácido indol acético (ppm)
<i>Azospirillum</i> sp.15	Tallo	3,25	49,17
<i>Azospirillum</i> sp.21	Raíz	3,49	63,61
<i>Azospirillum</i> sp.36	Raíz	4,12	70,45
<i>Bacillus</i> sp.38	Tallo	2,20	16,21
<i>Bacillus</i> sp.12	Raíz	1,83	10,11
<i>Bacillus</i> sp.44	Tallo	1,90	21,13
<i>Burkholderia</i> sp.2	Tallo	4,28	33,73
<i>Burkholderia</i> sp.5	Raíz	4,44	59,30
<i>Burkholderia</i> sp.10	Raíz	4,07	28,24
<i>Herbaspirillum</i> sp.15	Tallo	3,08	44,70
<i>Herbaspirillum</i> sp.17	Raíz	2,56	40,14
<i>Herbaspirillum</i> sp.21	Raíz	3,59	53,81
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6	Raíz	4,44	68,39
<i>Gluconacetobacter</i> sp.12	Tallo	3,50	30,82
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22	Tallo	3,96	65,06

*Promedio de tres repeticiones

4.3 Efecto de bacterias endófitas diazotróficas en el crecimiento de *Zea mays* L. “maíz”

La inoculación de las bacterias endófitas diazotróficas aumentó el crecimiento de las plantas de maíz en la primera y segunda etapa del bioensayo. En la primera etapa, a los 10 días, la altura se incrementó con rangos de 2,06 – 13,33 % (*Azospirillum* spp.); 7,82 – 14,98 % (*Burkholderia* spp.); 0,41– 14,16 % (*Herbaspirillum* spp.) y 13,00 – 13,33 % (*Gluconacetobacter* spp.). A los 20 días los rangos de incremento fueron de 1,39 – 9,85 % (*Azospirillum* spp.); 5,61 – 15,11 % (*Burkholderia* spp.); 2,43 – 16,19 % (*Herbaspirillum* spp.) y 2,43 – 16,19 % con *Gluconacetobacter* spp. (Figuras 15, tabla 5, anexos 2, 3). Respecto a la biomasa aérea fresca se alcanzaron rangos de incremento de 6,85 – 30,14 % (*Azospirillum* spp.); 4,79 – 32,19 % (*Burkholderia* spp.); 4,11 – 30,14 % (*Herbaspirillum* spp.) y 4,79 – 28,08 % (*Gluconacetobacter* spp.). En cuanto a la biomasa seca los rangos de incremento fueron de 9,09 – 72,73 % *Azospirillum* spp.); 9,09 – 54,55 % (*Burkholderia* spp.); 18,18 – 63,64 % (*Herbaspirillum* spp.) y 0,00 – 54,55 % con *Gluconacetobacter* spp. (Tabla 6, anexos 5 ,6).

En la segunda etapa del ensayo, las bacterias endófitas diazotróficas, así como el testigo químico aumentaron la altura y la biomasa aérea (fresca y seca) de las plantas de maíz respecto al testigo no aplicado (Figuras 16, 17). Los porcentajes de incremento en la altura por efecto de las bacterias endófitas diazotróficas fueron de 12,92 - 24,91 % (10 días); 5,02 - 20,71 % (20 días); 22,90 - 41,05 % (30 días) y 32,42 - 50,24 % a los 40 días en comparación con el testigo químico cuyos valores fueron de 2,45; 4,02; 5,79 y 8,14 % respectivamente. En cuanto al peso de la biomasa aérea el porcentaje de incremento por efecto de las bacterias endófitas diazotróficas fue de 30,99 - 76,99 % (biomasa fresca) y 6,41 - 28,20 % (biomasa seca) en comparación con el testigo químico cuyos valores fueron de 10,60 y 11,42 respectivamente.

Figura 15

Zea mays L., 20 días después de la inoculación de bacterias endófitas diazotróficas fijadoras de nitrógeno.

**Tabla 5**

Rango de la altura de plantas de *Zea mays L.* inoculadas con 60 bacterias endófitas diazotróficas de *Saccharum officinarum*

Tratamientos	Rango en la altura (cm) / días		Incremento (%) /días	
	10	20	10	20
Testigo (T0)	12,15 ± 0,33	31,56 ± 1,17		
<i>Azospirillum</i> spp.	12,40±0,36 – 13,77±0,15	32,00±1,73 – 34,67± 0,58	2,06 – 13,33	1,39 – 9,85
<i>Burkholderia</i> spp.	11,20±0,10 – 13,97± 0,06	33,33±0,58 – 36,33± 0,58	7,82 – 14,98	5,61 – 15,11
<i>Herbaspirillum</i> spp.	12,20±0,30 – 13,87± 0,21	32,33±0,58 – 36,67± 0,58	0,41– 14,16	2,43 – 16,19
<i>Gluconacetobacter</i> spp.	10,57±0,40 – 13,77± 0,47	32,33±0,58 – 36,67 ± 0,58	13,00 – 13,33	2,43 – 16,19

Tabla 6

Rango de la biomasa aérea de plantas de Zea mays L. inoculadas con 60 bacterias diazotróficas de Saccharum officinarum L.

Tratamientos	Rango en la biomasa (g) / 20 días		Incremento (%)	
	Fresca	Seca	Fresca	Seca
Testigo (T0)	1,46 ± 0,22	0,11 ± 0,02		
<i>Azospirillum</i> spp.	1,56±0,05 – 1,90±0,10	0,12±0,01 – 0,19±0,02	6,85 – 30,14	9,09 – 72,73
<i>Burkholderia</i> spp.	1,39±0,03 – 1,93± 0,15	0,12±0,02 – 0,17±0,02	4,79 – 32,19	9,09 – 54,55
<i>Herbaspirillum</i> spp.	1,40±0,10 – 1,90± 0,09	0,13±0,01 – 0,18±0,02	4,11 – 30,14	18,18 – 63,64
<i>Gluconacetobacter</i> spp.	1,39±0,03 – 1,87± 0,03	0,11±0,01 – 0,17±0,01	4,79 – 28,08	0,00 – 54,55

Figura 16

Zea mays L., 40 días después de la inoculación de bacterias endófitas diazotróficas (a) *Gluconacetobacter* sp.6, (b) *Gluconacetobacter* sp.2, (c) *Herbaspirillum* sp. 21, (d) *Azospirillum* sp. 36, (e) *Burkolderia* sp. 5

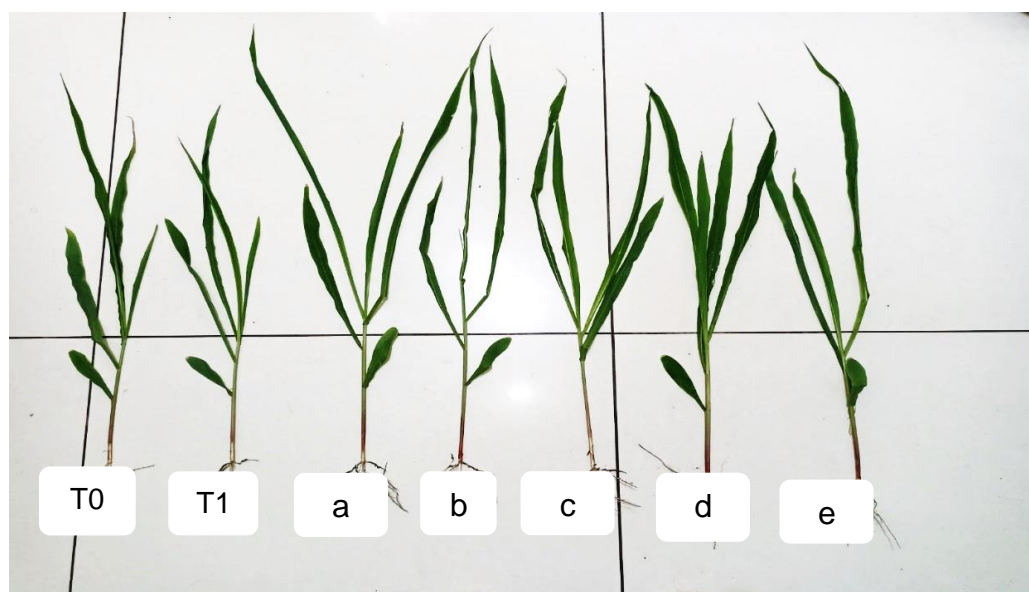
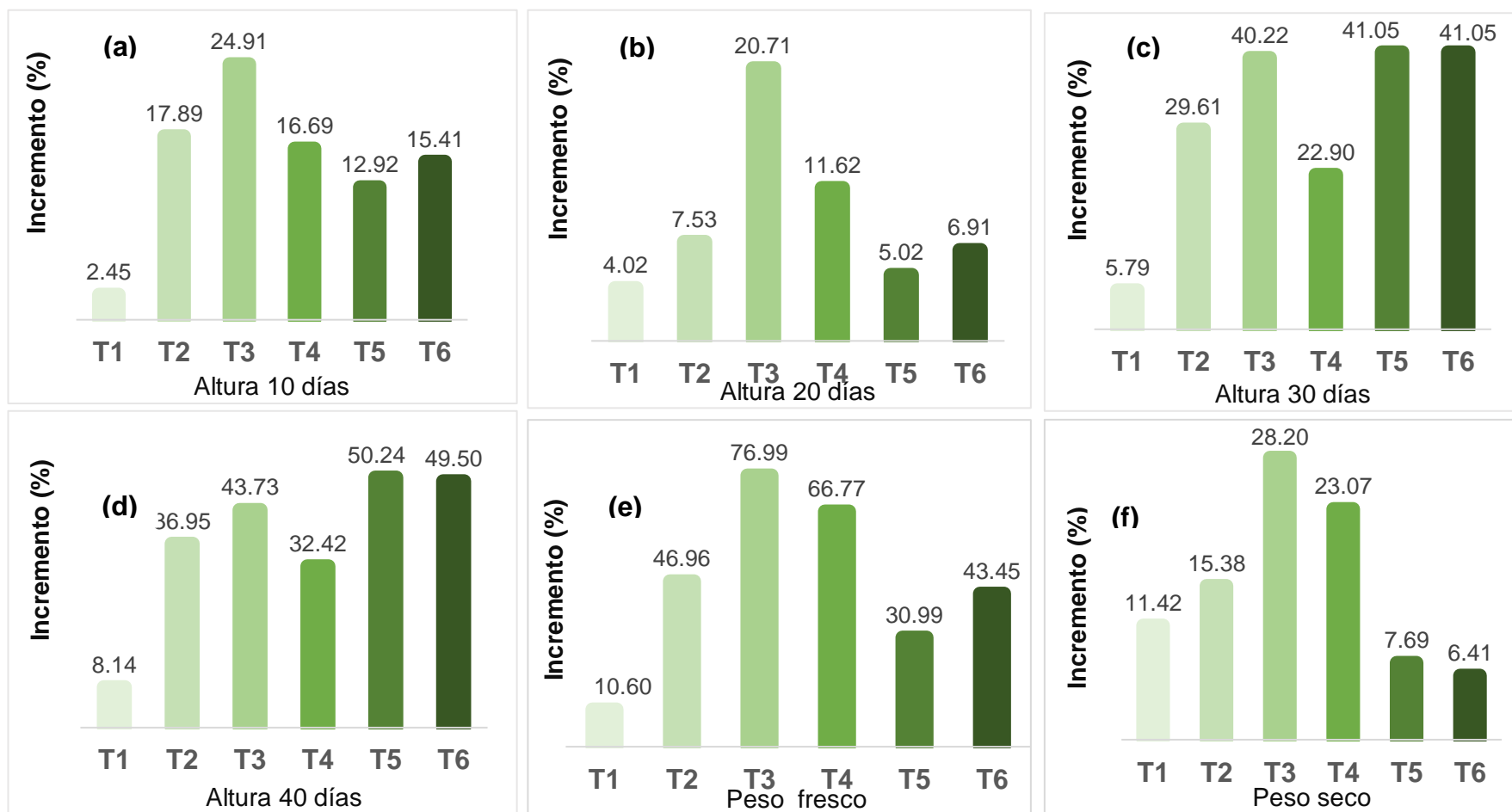


Figura 17

Incremento (%) en la altura de plantas de Zea mays L. a los 10 días (a), 20 días(b), 30 días(c), 40 días(d) y biomasa aérea fresca (e) seca(f) después de la aplicación de bacterias endófitas diazotróficas y fertilizante químico (T1= Químico, T2= Azospirillum sp.36, T3= Burkholderia sp.5, T4= Herbaspirillum sp. 21, T5= Gluconacetobacter sp.6, T6= Gluconacetobacter sp.22).



El análisis de varianza de los promedios de la altura de las plantas de maíz, así como el peso de la biomasa aérea demostró alta significancia entre los tratamientos. La prueba de TuKey demostró que los mayores valores en la altura de las plantas a los 10 días se alcanzaron con *Burkholderia* sp. 5 (T3) sin diferencias significativas con *Herbaspirillum* sp. 21 (T4), *Azospirillum* sp. 36 (T2) y *Gluconacetobacter* sp. 22 (T6) pero sí con los demás tratamientos. Respecto a la biomasa aérea de las plantas de maíz los mayores valores correspondieron a *Burkholderia* sp. 5 (T3) y *Herbaspirillum* sp. 21 (T4) con diferencias significativas frente a los demás tratamientos (Tablas 7, 8, anexo 7).

En cuanto a la altura de las plantas de maíz a los 20, 30 y 40 días la prueba no paramétrica de kruskal-Wallis determinó que el mayor valor se alcanzó con *Burkholderia* sp. 5 a los 20 días; *Burkholderia* sp. 5, *Gluconacetobacter* sp. 6, *Gluconacetobacter* sp. 22 y *Azospirillum* sp. 36 a los 30 y 40 días, con diferencias estadísticas frente a los demás tratamientos (anexo 8). El contenido de nitrógeno de las plantas inoculadas con *Burkholderia* sp. 5 (T3) fue de 0,70 % en comparación con 0,63 % en el testigo (T0), tal que se determinó 0,07 % de incremento en el nitrógeno por efecto de la inoculación de las bacterias endófitas diazotróficas (Anexo 9,10).

Tabla 7

Altura de plantas de Zea mays L. por efecto de la aplicación de bacterias endófitas diazotróficas y fertilizante químico

Tratamientos	Altura(cm)/días											
	10*			20**			30**			40**		
	\bar{X}	sd.	Sign.	\bar{X}	sd.	Sign.	\bar{X}	sd.	Sign.	\bar{X}	sd.	Sign.
Testigo (T0)	11,40 ± 0,20		c	34,07 ± 0,93		c	37,78 ± 1,35		c	40,89 ± 2,27		c
Testigo químico (T1)	11,68 ± 0,48		c	35,44 ± 1,26		c	39,78 ± 2,22		c	44,22 ± 1,58		c
<i>Azospirillum</i> sp.36 (T2)	13,77 ± 1,04		a b	38,11 ± 1,39		b c	51,56 ± 1,68		a b	60,56 ± 0,69		a b
<i>Burkholderia</i> sp.5 (T3)	14,59 ± 0,85		a	42,78 ± 3,02		a	55,78 ± 1,54		a	63,56 ± 0,84		a b
<i>Herbaspirillum</i> sp.21 (T4)	13,81 ± 0,65		a b	39,56 ± 1,39		b	48,89 ± 0,77		b	58,56 ± 0,83		b
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6 (T5)	13,19 ± 0,40		b	37,22 ± 2,36		b c	56,11 ± 1,68		a	66,44 ± 2,17		a
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22 (T6)	13,48 ± 0,49		a b	37,89 ± 3,56		b	56,11 ± 2,04		a	66,11 ± 2,27		a

* ANOVA, $p < 0,05$

** Kruskal-Wallis, $p < 0,05$

Tabla 8

Peso de la biomasa aérea de plantas de Zea mays L. por efecto de la aplicación de bacterias endófitas diazotróficas y fertilizante químico

Tratamientos	Biomasa(g)/ 40 días					
	Fresca*			Seca*		
	\bar{X}	sd.	Sign.	\bar{X}	sd.	sign.
Testigo (T0)	2,83 ± 0,18		c	0,35 ± 0,02		c d
Testigo químico (T1)	3,13 ± 0,22		c	0,39 ± 0,02		b c d
<i>Azospirillum</i> sp.36 (T2)	4,60 ± 0,23		b	0,45 ± 0,05		a b
<i>Burkholderia</i> sp.5 (T3)	5,54 ± 0,41		a	0,50 ± 0,04		a
<i>Herbaspirillum</i> sp.21 (T4)	5,22 ± 0,15		a	0,48 ± 0,03		a
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6 (T5)	4,10 ± 0,12		b	0,42 ± 0,02		b c
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22 (T6)	4,49 ± 0,10		b	0,35 ± 0,02		d

*ANOVA, $p < 0,05$

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El cultivo de *Saccharum officinarum* L. “caña de azúcar” requiere nitrógeno para su crecimiento sobre todo en su fase inicial (Singh et al., 2022), por lo que en forma convencional se aplican fertilizantes químicos nitrogenados. Estos productos aportan el nutriente requerido; sin embargo, la eficiencia de su uso en la caña de azúcar ($250 - 400 \text{ kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$) es de 20 - 30 % y en cada cosecha el suelo sufre una pérdida de 50 - 100 kg ha^{-1} (Hossain et al., 2020). Esta problemática es discutida considerando los reportes científicos que han estimado que la fijación biológica de nitrógeno (diazotrofia) aporta a la caña de azúcar 60 - 80 % del nutriente equivalente a $200 \text{ kg Nha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ (Lima et al., 1987, citados por Hossain et al., 2020). En este contexto, se consideró el cultivo de caña de azúcar para el aislamiento y caracterización de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno que pueden ser aplicadas en cultivos de importancia económica (Singh et al., 2022) como *Zea mays* L. “maíz”.

En raíces y pseudotallos de caña de azúcar cultivados en medios carentes nitrógeno se aislaron bacterias endófitas diazotróficas, al igual que lo reportaron Singh et al. (2022), Molina (2021) y Paredes et al. (2020). Las bacterias endófitas son aquellas que en algún momento de su ciclo se encuentran en el interior de los tejidos de las plantas con las cuales establecen una simbiosis. La mayoría coloniza los espacios intercelulares y benefician a las plantas como controladores biológicos, como mejoradores de la fitorremediación y como promotores de crecimiento en plantas. En este último caso presentan múltiples mecanismos entre los que se encuentra la fijación de nitrógeno (Singh et al., 2022).

Las bacterias diazotróficas también han sido aisladas de suelo rizosférico en medio sin nitrógeno (Singh et al., 2020) o fueron aisladas junto a otros microorganismos en medios de cultivo comunes y después se determinó la fijación de nitrógeno por bacterias endófitas (tallos y raíces) y rizosféricas (Michavila et al., 2022; Hoang et al., 2020). Las bacterias diazotróficas endófitas tienen la ventaja del ambiente microaerófilo

requerido para la actividad del complejo enzimático nitrogenasa y la mínima competencia con otros microorganismos (Singh et al., 2022).

Los medios de cultivo sin nitrógeno semiselectivos en los que se aislaron bacterias diazotróficas fueron utilizados previamente por Singh et al. (2020) en lo correspondiente a JNFb y LGI; Paredes et al. (2020) en cuanto al LGIP y Tortora et al. (2019) respecto al NFb. Las bacterias fijadoras reducen el nitrógeno atmosférico y lo convierten en amoníaco que es utilizado por las plantas, en un proceso catalizado por la enzima nitrogenasa sensible al oxígeno y constituido por varias subunidades codificadas por los genes *nif H*, *nif D* y *nif K*, entre los que el *nif H* es el más utilizado como referente en estudios poblacionales (Singh et al., 2022; Hardoim et al., 2015; Gaby y Buckley, 2012). Los medios semisólidos sin nitrógeno favorecen la actividad del complejo enzimático nitrogenasa y las bacterias fijadoras forman una película bajo la superficie donde se encuentran las condiciones de microaerofilia favorables para la nitrogenasa (Hoang et al., 2020).

El número de bacterias diazotróficas aisladas fue mayor en la rizósfera que en los tallos al igual que el reporte de Hoang et al. (2020) quienes aislaron 6 - 13 bacterias diazótrofes en raíces y 6 – 9 en tallos de caña de azúcar de 6 meses; así como también, Aroumougame et al. (2020) investigaron las bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno del género *Burkholderia* en raíces y tallos de caña de azúcar y cuantificaron (UFC x 10⁻³ g⁻¹ tejido) 3,5 en raíces ; 2,5 en tallos y no se cuantificaron bacterias endófitas en hojas . Por su parte, Singh et al. (2022) investigaron la diversidad de bacterias endófitas diazotróficas en cinco especies de caña de azúcar y determinaron que el número máximo de unidades taxonómicas operativas (OTUs) correspondió a los tejidos de las raíces y el mínimo número a los tejidos de las hojas. Asimismo, se determinó que la caracterización de las bacterias fijadoras de nitrógeno depende de la técnica utilizada. Mediante la técnica del medio de cultivo se obtuvieron 194 morfotipos entre los que se identificaron 19 géneros y 42 especies. A su vez, en la caracterización molecular de microorganismos cultivables y no cultivables se determinaron 319 766 unidades taxonómicas operativas (OTUs) en raíces, tallos y hojas y se identificaron 56 géneros y 94 especies.

Los resultados evidencian una diversidad microbiana que no puede ser cultivada para su aislamiento en medios; no obstante, desempeñan funciones importantes en las plantas.

El suelo es la fuente inicial de las bacterias diazotróficas fijadoras de nitrógeno y las endófitas ingresan por las raíces y migran hacia las diversas partes del vegetal. En este contexto, Vogel et al. (2022), citados por Aroumougame et al. (2020), demostraron que *Burkholderia spp.* representaron 2 - 7 % de las bacterias cultivables en el suelo y 17 – 25 % en las raíces, valores que evidenciaron la asociación cercana entre las bacterias diazotróficas y la caña de azúcar. Por el contrario, Tufail et al. (2021) demostró a nivel molecular *G. diazotrophicus* en raíces, tallos y hojas de maíz; no obstante, la presencia de la bacteria endófitas fue mayor en tallos que en raíces y hojas.

La identificación de los cinco géneros bacterianos como endófitos diazotróficos en caña de azúcar con la presente investigación coincide con los reportes de Singh et al. (2022), Aroumougame et al. (2020), Paredes et al. (2020) y Singh et al. (2020) en lo correspondiente a *Burkholderia*, *Gluconacetobacter*, *Bacillus*, *Herbaspirillum* y *Azospirillum spp.* Al respecto Singh et al. (2022) determinaron que entre los ocho géneros de bacterias predominantes en cinco especies de caña de azúcar se incluyeron *Burkholderia*, *Azospirillum* y *Herbaspirillum* además de *Kosakonia*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Enterobacter* y *Stenotrophomonas*.

Respecto a *Gluconacetobacter spp.*, Paredes et al. (2020) colectaron muestras de tejidos de caña de azúcar en la costa norte del Perú (Piura, Lambayeque, La Libertad, Ancash) y caracterizaron a nivel molecular y fenotípica las bacterias endófitas. Entre éstas, cinco se identificaron como *G. diazotrophicus*. El porcentaje de bacterias diazotróficas identificadas en el género *Gluconacetobacter* fue 5, 47 % en raíces y 19,12 % en pseudatillos, diferencia que puede ser explicada por la investigación de Paredes et al. (2020) quienes identificaron *G. diazotrophicus* en tallos y hojas, pero no en raíces, evidenciando el movimiento de las bacterias hacia las partes superiores de la planta de caña de azúcar. Al respecto, Saranjay et al. (2021) concluyeron que el aislamiento de *G. diazotrophicus* depende

de otros factores como la dosis de nitrógeno aplicada en los cultivos de caña de azúcar. En plantas con 275 – 300 kg Nha⁻¹ se tiene 1,1 – 2,5 % de aislamiento y en plantas con 120 kg Nha⁻¹ se alcanza 10- 67 % de frecuencia.

Las bacterias endófitas diazotróficas solubilizaron fosfato y produjeron AIA, características que evidencian promoción de crecimiento de las plantas reportadas previamente por Singh et al. (2022), Michavila et al. (2022) y Hoang et al. (2020), en lo concerniente a la solubilización de fosfato, así como también Michavila et al. (2022), Aroumougame et al. (2020), Hoang et al. (2020) y Paredes et al. (2020) en cuanto a la síntesis de AIA. Respecto a la solubilización de fosfato en la presente investigación el 62,29 % de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno solubilizó fosfato, porcentaje menor al reportado por Hoang et al., (2020) con 73,6 % y Singh et al., (2020) con 82 %.

En cuanto a la concentración de ácido indol acético (AIA) producido el mayor valor (70,45 ppm) fue superior al reportado por Hoang et al. (2020) con 13,4 ppm; pero fue inferior a 71,47 ppm reportadas por Paredes et al. (2020). La concentración de ácido indol acético (AIA) depende de la presencia o ausencia del triptófano. Al respecto, Aroumougame et al. (2020), demostraron que *Burkholderia* spp. produjeron 1,80 – 3,61 ppm en caldos sin triptófano y 2,77 – 5,06 ppm con triptófano. Asimismo, Michavila et al. (2022) determinaron rangos de 11,42 – 44,88 ppm de AIA en caldo sin triptófano y 29,65 – 316,84 ppm de AIA en caldo con triptófano cultivados con bacterias del género *Bacillus*.

Las bacterias endófitas diazotróficas son consideradas promotoras de crecimiento en plantas y además de la fijación de nitrógeno producen sideróforos (Hoang et al., 2020), cianuro de hidrogeno (Singh et al., 2020), giberelinas, citoquininas y presentan actividad de la enzima ACC desaminasa (Aroumougame et al. ,2020), tienen actividad antifúngica (Singh et al., 2020) y antibacteriana (Michavila et al., 2022).

La promoción de crecimiento en maíz por efecto de las bacterias diazotróficas observada en la presente investigación coincide con las

investigaciones de Mallé et al. (2020) en cuanto a *Azospirillum* spp., García et al. (2019) respecto a *Bacillus* spp; Rao y Savalgi (2019) respecto a *Gluconacetobacter* spp., Schultz et al. (2022) en cuanto a *Herbaspirillum* spp. y Tagele et al. (2019) en lo que se refiere a *Burkholderia* sp. Las bacterias fijadoras de nitrógeno incrementaron la altura y biomasa aérea y radicular del maíz; no obstante, también se ha reportado aumento del porcentaje de germinación (García et al., 2019); índice de vigor de plántulas (Bidarkar y Murumkar, 2020), diámetro del tallo, contenido de clorofila (Rao y Savalgi, 2019), diámetro y color de hojas, número de hojas por planta (García et al., 2019), longitud de raíces (Pitchaiah et al., 2021) número y peso de granos (Mallé et al., 2020), diámetro y longitud de las mazorcas y relación beneficio – costo (Contreras et al., 2020).

Los reguladores del crecimiento vegetal como el AIA producido por las bacterias diazotróficas promueven la elongación de las células, formación de raíces y pelos radiculares, proliferación de pelos radiculares y como consecuencia aumenta la capacidad de absorción de los nutrientes (García et al., 2019). La producción de indoles afecta el balance hormonal en las plantas y por lo tanto influencia el crecimiento, de manera prioritaria con incremento de la superficie radicular que a su vez favorece la absorción de agua y nutrientes del suelo (Amezquita et al., 2021).

El incremento del nitrógeno foliar en las plantas inoculadas con bacterias diazotróficas coincide con los reportes de Rao y Savalgi (2019) y Tufail et al. (2021). El aumento en el contenido de nitrógeno es consecuencia de la fijación de nitrógeno que favorece la disponibilidad del nutriente para las plantas (Rao y Savalgi, 2019). La promoción de crecimiento radicular por efecto de las bacterias diazotróficas fijadoras de nitrógeno favorece la mayor absorción de nitrógeno del suelo proveniente de la fijación biológica o de la aplicación de los fertilizantes químicos nitrogenados (Amaral et al., 2022).

El efecto promotor del crecimiento de maíz por *Burkholderia* sp. 5 fue mayor al de *Gluconacetobacter* sp. 6. Las bacterias de este género favorecen el cultivo de la caña de azúcar (Hossain et al., 2020; Paredes et al., 2020) y en el maíz son capaces incrementar la germinación, el índice de vigor de las plántulas, la altura, la longitud de las raíces y la biomasa de las plantas

cultivadas con 50 % de la dosis del nitrógeno requerido como lo demostraron Bidarkar y Murumkar (2020). Respecto a *Burkholderia* sp. , Sandana et al. (2020) concluyeron que esta bacteria endófitas en raíces, tallos y hojas, constituye una importante contribución a la agricultura debido a que produce ácido indol acético, giberelinas y citoquininas, sideróforos y presenta actividad ACC desaminasa, características que favorecen el crecimiento y rendimiento de las plantas.

Por el contrario, Schultz et al. (2022) concluyeron que la variación genética de las plantas de maíz tiene un efecto significativo en el fenotipo y la interacción con las bacterias endófitas puede ser débil o inconsistente con los diferentes genotipos. Los investigadores inocularon 15 genotipos de maíz con dos bacterias endófitas caracterizadas como promotoras de crecimiento y determinaron que *Herbaspirillum seropedicae* incrementó el contenido de clorofila, la altura de las plantas y longitud y volumen de las raíces. Por lo contrario, *Burkholderia* sp. WP9 no promovió el crecimiento de los fenotipos de maíz bajo condiciones de invernadero durante 3 semanas.

En la investigación se demostró el potencial de las bacterias fijadoras de nitrógeno para promover el crecimiento de maíz y con este resultado se coincide con las observaciones de Rao y Savalgi (2019) y Bidarkar y Murumkar (2020) quienes determinaron que estas bacterias incrementan el crecimiento y rendimiento de maíz inclusive al disminuir en 25 % - 50 % la dosis del fertilizante nitrogenado aplicado.

VI. CONCLUSIONES

6.1 En muestras de raíces y pseudotallos de 25 plantas de caña de azúcar variedad RB 72-454 (Brasileira) de 9 a 12 meses, se obtuvieron 366 bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno o diazotróficas formadoras de una película blanquecina horizontal o blanco cremosa en forma de paraguas bajo la superficie del medio de cultivo semisólido sin nitrógeno. Las características fenotípicas investigadas en las bacterias diazotróficas identificaron los géneros *Gluconacetobacter* (22 %), *Bacillus* (21 %), *Azospirillum* (19%), *Herbaspirillum* (16 %), %) y *Burkholderia* (14%).

6.2 El 62,29 % de las bacterias diazotróficas solubilizaron fosfato tricálcico con índices de solubilización 0,50 – 4,40. El 7,96 % de las bacterias endófitas produjeron ácido indol acético y se cuantificaron 4,05 – 70,45 % ppm. El 55 % de las bacterias endófitas solubilizaron fosfato tricálcico y produjeron ácido indol acético y entre ellas se seleccionaron *Azospirillum* spp. 15, 21 y 36; *Bacillus* spp. 38, 12 y 44; *Burkholderia* spp. 2, 5 y 10; *Herbaspirillum* spp. 15, 17 y 21 y *Gluconacetobacter* spp. 6, 12 y 22.

6.3 Las bacterias endófitas diazotróficas incrementaron la altura de las plantas de maíz alcanzando valores de 12,92 - 24,91 % (10 días); 5,02 - 20,71 % (20 días); 22,90 - 41,05 % (30 días) y 32,42 - 50,24 % (40 días) en comparación al testigo químico. Asimismo, incrementaron la biomasa aérea alcanzando valores de 30,99 - 76,99 % (fresca) y 6,41 - 28,20 % (seca) en comparación con el testigo químico.

VII. RECOMENDACIONES

Identificar con técnicas moleculares *Azospirillum* sp.36; *Burkholderia* sp.5; *Herbaspirillum* sp.21; *Gluconacetobacter* sp.6; y *Gluconacetobacter* sp.22.

Investigar el efecto de *Burkholderia* sp.5 en el desarrollo de *Zea mays* L. “maíz” en condiciones de campo.

Comparar el efecto de *Azospirillum* sp.36, *Burkholderia* sp.5, *Herbaspirillum* sp.21, *Gluconacetobacter* sp.6, y *Gluconacetobacter* sp.22, en el crecimiento y rendimiento de *Saccharum officinarum* L. “caña de azúcar”.

VIII. REFERENCIAS

- Acosta, M., Cruz, M., Pichardo, T., Rodriguez, E., Barbón, R., Capote, A., Pérez, A., y Alvarado, Y. (2019). In vitro phosphate solubilization by *Aspergillus* and *Penicillium* strains and coffee plants growth promotion. *Bioteecnología Vegetal*, 19(1), 65-72. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2074-86472019000100065.
- Alves, P., Simões, J., Soares, M., Magalhães, L., Maltempi, E., y Baldani, J. (2017). Draft genome sequence of *Paraburkholderia tropica* Ppe8 strain, a sugarcane endophytic diazotrophic bacterium. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(2), 210-211. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.07.005>
- Ahmed, B., Zaidi, A., Saghir, M., Rizvi, A., Saif, M., y Shahid, M. (2017). Perspectives of plant growth promoting rhizobacteria in growth enhancement and sustainable production of tomato. *Microbial Strategies for Vegetable Production*, 125–149. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54401-4_6
- Amezquita, C., Coronel, C., De los Santos, S., Santoyo, G., y Parra, F. (2021). Characterization of native plant growth-promoting bacteria (PGPB) and their effect on the development of maize (*Zea mays* L.). *Biotecnia*, 24(1), 15-22. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v24i1.1353>
- Amaral, W., Rodrigues, F., Pereira, A., y Abadia, M. (2022). Evaluation of *Azospirillum brasilense* dose response on fresh and dry matter of shoot and root of corn plants. *Journal of Neotropical Biology*, 9(4), 6993. <https://doi.org/10.32404/rean.v9i4.6993>
- Antunes, J., Freitas, A., Aurenivia, B., Souza, L., Silva, S., Catanho, M., Oliveira, J., Ollero, F., Ferreira, A., y Barreto, M. (2022). Isolation and characterization of plant growth-promotion diazotrophic endophytic bacteria associated to sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) grown in Paraíba, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 65. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2022200439>
- Aroumougame, S., Geetha, T., y Thangaraju, M. (2020). Exploitation of PGPR endophytic *Burkholderia* isolates to enhance organic agriculture. *American Journal of BioScience*, 8(3), 57-64. <http://www.sciencepublishinggroup.com/j/ajbiDOI:10.11648/j.ajbio.20200803.1>
- Atikur, k., y Dunfu, Z. (2018). Effects of fertilizer broadcasting on the excessive use of Inorganic fertilizers and environmental sustainability. *Sustainability*, 10(759). <https://doi.org/10.3390/su10030759>
- Akhdar, I., Sheekh, M., Allam, N., Kamal, F., Shanab, A., y Staehelin, C. (2019). Evaluation of salt-tolerant *Azospirillum lipoferum* and its role in

- improvement of wheat growth parameters. *Environment, Biodiversity y Soil Security*, 3, 163-178. <https://jenvbs.journals.ekb.eg/>
- Bolívar, H., Contreras, M., y Teherán, L. (2016). *Burkholderia tropica* una bacteria con gran potencial para su uso en la agricultura. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 19(2), 102-108. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2016.06.003>
- Bonilla, G., Durrer, A., y Cardoso, E. (2021). El uso de compost y bacterias solubilizadoras de fosfato afectan la nutrición mineral de la caña de azúcar, la disponibilidad de fósforo y la comunidad bacteriana del suelo. *Ecología del Suelo Aplicada*, 157. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103760>
- Bidarkar, N., y Murumkar, D. (2020). Response of sweet corn to microbial inoculation by *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *International Journal of Current Microbiology*, 9(7), 1903-191. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.907.217>
- Brenner, D., Krieg, N., y Staley, J. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Volume two: The proteobacteria part B the Gammaproteobacteria) (2da ed.). *Springer*. <https://doi.org/10.1007/0-387-29298-5>
- Cherlinka, V. (2022). How to grow sugar cane: From planting to harvesting. *EOS Data Analytics: Space solutions for Earth problems*. <https://eos.com/blog/how-to-grow-sugar-cane/>
- Contreras, S., Mendoza, E., Quiliche, J., Mejía, C., Palacios, B., y Velasquez, J. (2020). Inoculation effect of *Azospirillum* sp. and two levels of nitrogen on the performance of the hybrid corn 'Insignia 800'. *Peruvian Journal of Agronomy*, 4(2), 48-54. <https://doi.org/10.21704/pja.v4i2.1533>
- Corrales, M., Lumbres, V., Iglesias, S., y Carreño, C. (2020). Potencialidades de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, aisladas de *Portulaca oleracea* L. en suelos con salinidad. *Pastos y Forrajes*, 43(2), 93-101. <https://www.redalyc.org/journal/2691/269164290002>
- Dancé, J., y Sáenz, D. (2015). La cosecha de caña de azúcar: Impacto económico, social y ambiental. *Boletín Técnico Informativo*, 1-18. [https://file:///C:/Users/Luis/Downloads/bf7d127742b51245315817dad4262628%20\(1\).pdf](https://file:///C:/Users/Luis/Downloads/bf7d127742b51245315817dad4262628%20(1).pdf)
- Díaz, C., Hidalgo, E., Mendoza, M., Cieza, I., Wladimi, T., y Valdés, O. (2023). New thilinear hybrid of hard yellow corn for the Peruvian tropic. *Agronomía Mesoamericana*, 34(1). <https://doi.org/10.1007/0-387-29298-5>
- Duoc, T., y Hiep, N. (2022). Beneficial effects of nitrogen-fixing bacteria on the growth and the yield of corn cultivated at an Giang province. *International Journal of Environmental y Agriculture Research (IJOEAR)*, 8(1), 2454-1850. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>
- Espinoza, B., Cano, P., Salas, L., García, J., Preciado, P., Sáenz, J., y Reyes, J. (2019). Bioinoculantes y concentración de la solución nutritiva sobre la

- producción y calidad de tomate. *Biotecnia*, 21(3), 100-107.
<http://biotecnia.unison.mx>
- Ferreira, N., Mazzuchelli, R., Pacheco, A., Araujo, F., Antunes, J., y Araujo, A. (2018). *Bacillus subtilis* improves maize tolerance to salinity. *Ciência Rural*, 48(8). <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170910>
- Ferreira, N., Anna, F., Reis, V., Ambrosini, A., Volpiano, C., Rothballer, M., Schwab, S., Baura, V., Balsanelli, E., Pedrosa, F., Passaglia, L., Sousa, E., Hartmann, A., Cassan, F., y Zilli, J. (2020). Genome-based reclassification of *Azospirillum brasilense* Sp245 as the type strain of *Azospirillum baldaniorum* sp. Nov. *International Journal of Systematic and evolutionary Microbiology*, 70(12), 6203-6212.
<https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004519>
- García, J., Cuevas, F., De la Rosa, F., Mendoza, V., Vázquez, M., Mireles, H., y Vázquez, E. (2021). Identificación molecular y evaluación de bacterias en el desarrollo vegetativo y producción de chile habanero. *Biotecnia*, 23 (3), 151-157.
<https://www.redalyc.org/journal/6729/672971079018/movil/>
- García, V., Hernández, E., Reyes, L., Figueroa, U., Sáenz, J., Quiroga, H., y García, J. (2020). Las rizobacterias halófilas mantienen la calidad forrajera de Moringa oleifera cultivada en sustrato salino. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11(3), 718-737.
<https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i3.5175>
- Gaby, J., y Buckley, D. (2012). A comprehensive evaluation of PCR primers to amplify the nif H gene of nitrogenase. *PLoS ONE*, 7, 42149.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042149>
- González, R., Ramos, J., Hernández, Yunel., Espinosa García, I., Rodríguez, S., y Peña, D. (2019). Improvement of the agricultural productivity of lettuce and radish by using efficient microorganisms. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 72 (3).
<https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n3.76967>
- Gomes, R., Borges, M., Freitas Rosa, M., Gómez, R., y Spinosa, W. (2018). Acetic acid bacteria in the food Industry: Systematics, characteristics and applications. *Food Technology y Biotechnology*, 56 (30), 2.
<https://doi.org/10.17113/ftb.56.02.18.5593>
- Gurski, B., De Souza, J., Gerstemberger, E., y De Oliveira, R. (2021). Water requirements and restrictions to sugarcane in cane plants and ratoon cane cycles in Southern Brazil. *Acta Agronómica*, 69(2).
<https://doi.org/10.15446/acag.v69n2.60246>
- Hardoim, P., Van Overbeek, L., Berg, G., Pirttilä, A.M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., y Sessitsch, A. (2015) The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79, 293–320. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4488371/>
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la*

- Investigación* (6ta ed.). Hill Interamericana Editores S.A.
- Hossain, I., Ahmad, K., Siddiqui, Y., Saad, N., Rahman, Z., Osumanu, A., y Khairunniza, S. (2020). Current and prospective strategies on detecting and managing *Colletotrichum falcatum* causing red rot of sugarcane. *Agronomy*, 10(9), 12-53. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091253>
- Hoang, T., Dang, T., y Cao, D. (2020). Functional and molecular characterization of plant growth promoting bacteria associated with sugarcane cultivated in Tay Ninh province, Vietnam. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 03(02), 265–277. <https://www.researchgate.net/publication/341777955>
- Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA. (2014). *Variedades de Caña de Azúcar*. [Folleto]. <http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/63/1>
- Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA. (2020). *Manual técnico del cultivo de maíz amarillo duro* (1ª ed.). <https://www.gob.pe/inia>
- Imran, A., Zabta, K., Shomaila, S., y Shaheen, S. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*, 221, 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
- Lovaisa, N., Guevara, E., Quintana, P., Elías, J., Arroyo, J., y Salazar, S. (2018). Efecto de la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal en plantas de maíz (*Zea mays* L.). *Revista Agronómica Noroeste Argentina*, 38 (1), 33-38. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/87056>
- Li, H., Singh, R., Singh, P., Song, Q., Xing, Y., Yang, L., y Li, Y. (2017). Genetic diversity of nitrogen fixing and plant growth promoting *Pseudomonas* species isolated from sugarcane rhizosphere. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-20. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01268>
- Li, S., Xie, D., Ge, X., Dong, W., y Luan, J. (2022). Altered diversity and functioning of soil and root-associated microbiomes by an invasive native plant. *Plant and Soil*, 486, 235-249. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-022-05338-z>
- Liu, X., Zhou, J., Tian, J., Cheng, W., y Wang, X. (2020). *Herbaspirillum camelliae* sp. nov., a novel endophytic bacterium isolated from *Camellia sinensis* L. *Archives of Microbiology*, 202 (27), 1801-1807. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01892-1>
- Mallé, I., Kassogué, A., Baban, A., Paiva, C., y Murriel, I. (2020). A Malian native *Azospirillum* sp. Az6-based biofertilizer improves growth and yield of both rice (*Oryza sativa* L.) and maize (*Zea mays* L.). *African Journal of Microbiology Research*, 14(7), 286-293. <http://www.academicjournals.org/AJMR>
- Mendoza, B., Torres, D., Merú, L., Gómez, C., Estanga, M., y García, Y. (2021). Concentración de metales pesados en suelos agrícolas bajo diferentes sistemas de labranza. *TecnoLógicas*, 24(51). <https://doi.org/10.22430/22565337.1738>

- Mejía, M., Alejo, J., Pacheco, J., y Reyes, A. (2022). *Bacillus* spp. en el crecimiento y rendimiento de *Capsicum chinense* Jacq. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(01), 115-126. <https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/agricolas/article/view/2664>
- Molina, L., y Sut. V. (2021). Aislamiento e identificación de bacterias potencialmente útiles en el cultivo de caña de azúcar (I). *Cengicaña*, 186-196. <https://www.studocu.com/co/document/universidad-francisco-de-paula-santander/microbiologia-general>
- Montoro, A., y Ruiz, M. (2017). Ecofisiología del cultivo de maíz dulce (*Zea mays* L. var. *saccharata*). *Horticultura Argentina*, 36 (91), 153-166. <https://www.horticulturaar.com.ar/es/articulos>
- Muangthong, A., Youpensuk, S., y Rerkasem, B. (2015). Isolation and characterisation of endophytic nitrogen fixing bacteria in sugarcane. *Tropical Life Sciences Research*, 26(1), 41–51. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26868592/>
- Muhammad, M., Isnatin, U., Soni, P., y Praptiningsih, A. (2021). Eficacia de micorrizas, rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal y fertilizantes inorgánicos sobre el contenido de clorofila en *Glycine max* (L.) cv. Detam-4 Prida. *E3S Web of Conferences*, 226(31). <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202122600031>
- Michavila, G., Alibrandi, P., Ciná, P., Welin, B., Castagnaro, A., Chalfoun, N., Noguera, A., Puglia, A., Ciaccio, M., y Racedo, J. (2022). Plant growth-promoting bacteria isolated from sugarcane improve the survival of micropropagated plants during acclimatisation. *Italian Journal of Agronomy*, 17, 2006. https://www.researchgate.net/publication/362093636_Plant_growthpromoting_bacteria_isolated_from_sugarcane_improve
- Muñoz, B., y Sakurada, A. (2018). *Herbaspirillum* spp. *Retrato Microbiológico*, 35(05), 545-546. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182018000500545>
- Oliveira, I., Fontes, J., Pereira, B., y Muniz, A. (2018). Inoculation with *Azospirillum brasiliense* increases maize yield. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 5(6). <https://doi.org/10.1186/s40538-018-0118-z>
- Paredes, J., Del Rosario, J., Urcia, M., y Zabaleta, J. (2020). Plant growth promoter collection of *Gluconacetobacter diazotrophicus* from the northern coast of Peru. *Scientia Agropecuaria*, 11(1), 15 – 21. <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop>
- Patiño, S., Vargas, C., Flórez, F., Bonilla, R., y Bonilla, G. (2020). Potential of *Herbaspirillum* and *Azospirillum* consortium to promote growth of perennial ryegrass under water déficit. *Microorganisms*, 9(1), 91. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010091>
- Pitchaiah, P., Sasikala, C., y Swarnabala. (2021). Isolation, identification and characterization of native plant growth promoting bacteria and their plant

- growth promotion in *Zea mays*. *Research Journal of Biotechnology*, 16(8), 75-80. <https://doi.org/10.25303/168rjbt7521>
- Rao, H., y Salvalgi, V. (2019). Field evaluation of nitrogen fixing endophytic bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* NFGM5 on growth and yield of maize. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8 (1). 2319-7706. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.801.160>
- Ríos, Y., Sánchez, L., Álvarez, D., García, O., González, G., Rodríguez, J., y Rojas, M. (2019). The culture medium effect in plant growth promotion activity of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in carrot and sugar beet. *Revista Biológica Ciencias*, 6(e470). <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e470>
- Rojas, M., Rodríguez, A., González, L., y Heydrich, M. (2015). Influencia de diferentes factores en el crecimiento de bacterias endófitas de caña de azúcar. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(2), 149-155. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v17n2.54293>
- Sandana, A., Thirumangai, G., y Muthu, T. (2020). Exploitation of PGPR endophytic *Burkholderia* isolates to enhance organic agriculture. *American Journal of BioScience*, 8(3), 57-64. <https://doi.org/10.11648/j.ajbio.20200803.12>
- Saranraj, P., Jayaprakash, A., Devi, V., Tawaha, A., y Tawaha, R. (2021). Isolation and nitrogen fixing efficiency of *Gluconacetobacter diazotrophicus* associated with sugarcane: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 78. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/788/1/012171>
- Silva, M., Barreto, M., Da Silva, M., Gonçalves, A., Oliveira, J., Alves, C., Alexandre, L., Dos Reis, O., Ferreira, M., Da Costa, A., y Menezes, V. (2018). Biotechnological potential of endophytic bacteria to improve the micropropagated seedling of variety RB92579 sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Advances in Microbiology*, 8, 859-873. <https://doi.org/10.4236/aim.2018.811057>
- Singh, R., Singh, P., Li, H., Song, Q., Guo, D., Solanki, M., Verma, K., Malviya, M., Song, X., Lakshmanan, P., Yang, L., y Li, Y. (2020). Diversity of nitrogen-fixing rhizobacteria associated with sugarcane: a comprehensive study of plant-microbe interactions for growth enhancement in *Saccharum* spp. *BMC Plant Biol*, 20, 220. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02400-9>
- Singh, R., Singh, P., Sharma, A., Guo, D., Upadhyay, S., Song, Q., Verma, K., Li, D., Malviya, M., Song, P., Yang, L., y Li, Y. (2022). Unraveling nitrogen fixing potential of endophytic diazotrophs of different *Saccharum* species for sustainable sugarcane growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), 6242. <https://doi.org/10.3390/ijms23116242>
- Schultz, C., Brantley, K., y Wallace, J. (2022). The role of genetic variation in *Zea mays* response to beneficial endophytes. *Plant Growth Regulation*, 98, 167–177 <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00842-9>

- Tagele, S., Kim, S., Lee, H., y Lee, Y. (2019). Potential of novel sequence type of *Burkholderia cenocepacia* for biological control of root rot of maize (*Zea mays* L.) caused by *Fusarium temperatum*. *International Journal of Molecular*, 20 (1005). <https://doi.org/10.3390/ijms20051005>
- Tortora, M., Vera, L., Naval, N., Dantur, K., Núñez, M., Alderete, M., y Romero, E. (2019). Aislamiento, caracterización y actividad de cepas de *Azospirillum brasilense* asociadas a la caña de azúcar. *Cultivos Tropicales*, 40(1), 1-16. <https://www.redalyc.org/journal/1932/193261173007/html/>
- Tufail, M., Gonzáles, M., Pertot, I., y Ehlers, R. (2021). *Gluconacetobacter diazotrophicus* Pal5 enhances plant robustness status under the combination of moderate drought and low nitrogen stress in *Zea mays* L. *Microorganisms*, 9(4), 870. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040870>.
- Tchuisse, M., Ngonkeu, L., Malaa, D., Tekeu, H., Mballa, T., Galani, J., Nji, A., y Boudjeko, T. (2020). Grain morphological characterization and protein content of sixty-eight local rice (*Oryza sativa* L.) cultivars from Cameroon. *African Journal of Plant Science*, 14(1), 24-35. <http://www.academicjournals.org/AJPS>
- Velasco, Jiménez., Castellanos, Osvaldo., Hernández, Gustavo., Aarland, R., y Rodríguez, A. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 333-345. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>
- Verma, N., y Chowdhury, T. (2019). Isolation, characterization and identification of *Gluconacetobacter* to develop it as a biofertilizer for sugarcane crop in Chhattisgarh. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2, 323-326. <https://www.phytojournal.com/archives/2019/vol8issue2S/PartI/SP-8-2-60-470.pdf>
- Waqar, A., Bano, A., y Ajmal, M. (2022). Effects of PGPR bioinoculants, hydrogel and biochar on growth and physiology of soybean under drought stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 53, 826-847. <https://doi.org/10.1080/00103624.2022.2028818>
- Wikipedia. (2017). Distrito de Tumán. Recuperado de: https://es.wikipedia.org/wiki/Distrito_de_Tum%C3%A1n
- Zhao, Z., Ming, H., Ding, C., Ji, W., Cheng, L., Niu, M., Zhang, Y., Zhang, L., Meng, X., y Nie, G. (2020). *Azospirillum thermophilum* sp. nov., isolated from a hot spring. *International Journal of Systematic and evolutionary Microbiology*, 70, 550-554. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003788>

ANEXOS

ANEXO 1

Medios de cultivo para el aislamiento, identificación y mantenimiento de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno (en Garrido, 2007; Jha et al., 2009; Marra et al., 2012)

a. Solución tampón fosfato de potasio, 0,05 mol L⁻¹, PH 7,0

Componentes	gL ⁻¹
K ₂ HPO ₄	9,304
KH ₂ PO ₄	8,709
Agua destilada csp	1000mL

Verificar el pH 7,0 y autoclavar.

b. Medio de cultivo NFb (*Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum irakense* y *Azospirillum halopraeferens*)

Componentes	gL ⁻¹
Ácido málico	5,0
K ₂ HPO ₄	0,5
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2
NaCl	0,1
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0,02g
solución de micronutrientes I	2mL
Azul de bromotimol (0,5% en KOH 0,2N	2mL
FeEDTA (Solución 1,64%)	4mL
solución de vitaminas I (Biotinol)	1mL
KOH	4,5g

Pesar los compuestos en el orden indicado, posteriormente completar el volumen a 1000 ml con agua destilada y ajustar el PH a 6,5 – 6,8. Para el medio

semisólido agregar 1,75 – 1,8g de agar agarL⁻¹ y para el medio sólido 15g de agar agarL⁻¹ Y 20 mgL⁻¹ de extracto de levadura como fuente de nitrógeno

Solución de micronutrientes I:

Componentes	gL ⁻¹
CuSO ₄	0,04
ZnSO ₄	1,20
H ₃ BO ₄	1,40
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	1,00
MnSO ₄ .H ₂ O	1,175

Completar el volumen a 1000 mL con agua destilada.

FeEDTA (Solución 1,64 %)

Preparar una solución madre con 7,0g de FeSO₄.7H₂O y 2g de EDTA de potasio en 1L de agua destilada. Luego, tomar 1,17mL de la solución madre y completar a 1L con agua desmineralizada, para obtener la solución 1,64% de Fe deseada.

c. Medio de cultivo JMV (*Burkholderia* spp.)

Componentes	gL ⁻¹
Manitol	5,0
K ₂ HPO ₄	0,6
KH ₂ PO ₄	1,8
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,2
NaCl	0,1
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.02
Azul de bromotimol (0,5% en KOH 0,2N)	2mL
FeEDTA (Solución 1,64%)	2,1mL
solución de micronutrientes II	2mL
solución de vitaminas II	2mL
Agua destilada en cantidad suficiente	1000mL

Ajustar el pH a 5,0. Para obtener la solución de vitaminas II, diluir una pastilla de complejo B comercial en 10 mL de agua destilada.

Solución de micronutrientes II:

Componentes	gL ⁻¹
ZnSO ₄	0,1
MnCl ₂ ·2H ₂ O	0,03
H ₃ BO ₃	0,3
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,2
CuCl ₂ ·2H ₂ O	0,01
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,03
Agua destilada en cantidad suficiente	1000mL

d. Medio de cultivo JNFb (*Herbaspirillum* spp.)

El medio JNFb fue desarrollado por la investigadora Johanna Döbereiner a partir del medio NFb. La J hace referencia a la investigadora.

Componentes	gL ⁻¹
Ácido málico	5,0
K ₂ HPO ₄	0,6
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,2
NaCl	0,1
CaCl ₂ 2H ₂ O	0,02
solución de micronutrientes I	2mL
KH ₂ PO ₄	1,8
Azul de bromotimol (0,5% en KOH 0,2N)	2mL
FeEDTA (Solución 1,64%)	4mL
solución de vitaminas I (Biotinol)	1mL
KOH	4,5
Agua destilada en cantidad suficiente	1000mL

Ajustar el pH a 5,8. Para medio semisólido agregar 1,8g de agarL⁻¹, para medio sólido 18g de agarL⁻¹, 20mgL⁻¹ de extracto de levadura como fuente de nitrógeno y 6 mL de azul de bromotimol.

e. Medio de cultivo LGI-P (*Gluconacetobacter diazotrophicus*)

Este medio fue desarrollado a partir del medio de cultivo LGI (Baldani, 1984), en donde la P hace referencia a Pernambuco, lugar de aislamiento de la primera cepa de *Azotobacter diazotrophicus*.

Componentes	gL ⁻¹
Cristales de azúcar	100
K ₂ HPO ₄	0,2
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,2
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,02
KH ₂ PO ₄	0,6
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,002
Azul de bromotimol (0,5% en KOH 0,2N)	5 mL
FeCl ₃ · 6H ₂ O	0,01
solución de vitaminas I (Biotinol)	1mL
Agua destilada en cantidad suficiente	1000mL

Ajustar el pH a 5,5. Para medio semisólido agregar 1,8g de agarL⁻¹, para medio sólido 17g de agar agarL⁻¹ y 20 mgL⁻¹ de extracto de levadura como fuente de nitrógeno.

f. Agar nutritivo (AN)

Componentes	gL ⁻¹
Peptona	5,0
Extracto de carne	3,0
Agar agar	15,0
Agua destilada en cantidad suficiente	1000mL

g. Medio National Botanical Research Institute, NBRIP (en Alvarado y Valderrama, 2014)

Componentes	gL ⁻¹
Glucosa	10
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5
MgCl ₂ 6H ₂ O	5
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.1
NaCl	2
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.25
KCL	0.2
Agar agar	15
Agua destilada	1000

El medio NBRIP, así como SRSM serán suplementados con 45 mg de Fluconazol. Una capsula de 150 mg se disolverá en 10 mL de alcohol al 95% y se agregaran 2 mL de antibiótico disuelto por litro de medio de cultivo

h. Agar Papa dextrosa

Componentes	gL ⁻¹
Infusión de papa	200
glucosa	150
Agar	15
Agua destilada	1000ml

Ajustar el pH a 5.6 ±0.2.

Bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno que solubilizaron fosfato tricálcico.

Bacteria	Procedencia	Índice de solubilización
<i>Burkholderia</i> sp 5	Raíz	4,40
<i>Gluconacetobacter</i> sp 6	Raíz	4,40
<i>Burkholderia</i> sp. 2	Tallo	4,28
<i>Azospirillum</i> sp.36	Raíz	4,12
<i>Burkholderia</i> sp 10	Raíz	4,07
<i>Gluconacetobacter</i> sp 22	Tallo	3,96
<i>Herbaspirillum</i> sp 21	Raíz	3,59
<i>Gluconacetobacter</i> sp 12	Tallo	3,50
<i>Azospirillum</i> sp.21	Raíz	3,49
<i>Gluconacetobacter</i> sp 8	Raíz	3,27
<i>Azospirillum</i> sp. 15	Tallo	3,25
<i>Burkholderia</i> sp 6	Raíz	3,24
<i>Azospirillum</i> sp. 28	Tallo	3,23
<i>Azospirillum</i> sp.3	Raíz	3,10
<i>Herbaspirillum</i> sp 15	Tallo	3,08
<i>Burkholderia</i> sp 3	Raíz	3,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp 16	Tallo	3,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp 3	Raíz	2,99
<i>Azospirillum</i> sp. 26	Tallo	2,99
<i>Burkholderia</i> sp. 15	Tallo	2,99
<i>Gluconacetobacter</i> sp 30	Tallo	2,99
<i>Burkholderia</i> sp 16	Raíz	2,93
<i>Azospirillum</i> sp.2	Raíz	2,92
<i>Burkholderia</i> sp. 7	Tallo	2,91
<i>Gluconacetobacter</i> sp 13	Tallo	2,91
<i>Gluconacetobacter</i> sp 1	Raíz	2,90
<i>Gluconacetobacter</i> sp 18	Tallo	2,90
<i>Burkholderia</i> sp. 33	Tallo	2,88
<i>Gluconacetobacter</i> sp 28	Tallo	2,88
<i>Gluconacetobacter</i> sp 26	Tallo	2,87
<i>Azospirillum</i> sp.7	Raíz	2,83
<i>Herbaspirillum</i> sp 16	Raíz	2,81
<i>Burkholderia</i> sp 32	Raíz	2,78
<i>Gluconacetobacter</i> sp 14	Tallo	2,78
<i>Gluconacetobacter</i> sp 79	Tallo	2,76
<i>Gluconacetobacter</i> sp 47	Tallo	2,70
<i>Herbaspirillum</i> sp 17	Raíz	2,56
<i>Herbaspirillum</i> sp 29	Raíz	2,54
<i>Gluconacetobacter</i> sp 21	Tallo	2,53
<i>Burkholderia</i> sp 31	Raíz	2,52
<i>Burkholderia</i> sp. 19	Tallo	2,48
<i>Burkholderia</i> sp 13	Raíz	2,45
<i>Gluconacetobacter</i> sp 60	Tallo	2,45

continuación.....

Bacteria	Procedencia	Índice de solubilización
<i>Herbaspirillum</i> sp 19	Tallo	2,43
<i>Azospirillum</i> sp. 1	Raíz	2,41
<i>Herbaspirillum</i> sp 24	Tallo	2,41
<i>Herbaspirillum</i> sp 38	Tallo	2,39
<i>Herbaspirillum</i> sp 25	Raíz	2,38
<i>Azospirillum</i> sp.20	Raíz	2,33
<i>Azospirillum</i> sp.12	Raíz	2,32
<i>Gluconacetobacter</i> sp 45	Tallo	2,32
<i>Herbaspirillum</i> sp 27	Tallo	2,29
<i>Burkholderia</i> sp 17	Raíz	2,24
<i>Gluconacetobacter</i> sp 54	Tallo	2,24
<i>Herbaspirillum</i> sp 18	Raíz	2,23
<i>Herbaspirillum</i> sp 22	Raíz	2,20
<i>Bacillus</i> sp 38	Tallo	2,20
<i>Burkholderia</i> sp 8	Raíz	2,18
<i>Herbaspirillum</i> sp 26	Raíz	2,18
<i>Herbaspirillum</i> sp 23	Raíz	2,13
<i>Azospirillum</i> sp. 10	Tallo	2,12
<i>Gluconacetobacter</i> sp 40	Tallo	2,12
<i>Azospirillum</i> sp.39	Raíz	2,11
<i>Gluconacetobacter</i> sp 48	Tallo	2,08
<i>Gluconacetobacter</i> sp 43	Tallo	2,05
<i>Gluconacetobacter</i> sp 75	Tallo	2,02
<i>Herbaspirillum</i> sp 20	Raíz	2,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp 39	Tallo	2,00
<i>Azospirillum</i> sp.35	Raíz	1,99
<i>Gluconacetobacter</i> sp 32	Tallo	1,99
<i>Azospirillum</i> sp.32	Raíz	1,98
<i>Burkholderia</i> sp 15	Raíz	1,98
<i>Gluconacetobacter</i> sp 77	Tallo	1,98
<i>Azospirillum</i> sp.67	Raíz	1,97
<i>Burkholderia</i> sp 27	Raíz	1,96
<i>Azospirillum</i> sp.47	Raíz	1,95
<i>Azospirillum</i> sp. 63	Tallo	1,95
<i>Gluconacetobacter</i> sp 73	Tallo	1,95
<i>Azospirillum</i> sp.27	Raíz	1,94
<i>Gluconacetobacter</i> sp 50	Tallo	1,92
<i>Azospirillum</i> sp.5	Raíz	1,91
<i>Herbaspirillum</i> sp 2	Raíz	1,90
<i>Burkholderia</i> sp. 42	Tallo	1,90
<i>Gluconacetobacter</i> sp 38	Tallo	1,90
<i>Bacillus</i> sp 44	Tallo	1,90
<i>Herbaspirillum</i> sp 51	Tallo	1,89

continuación.....

Bacteria	Procedencia	Índice de solubilización
<i>Gluconacetobacter</i> sp 72	Tallo	1,89
<i>Bacillus</i> sp 53	Tallo	1,89
<i>Burkholderia</i> sp 45	Raíz	1,88
<i>Herbaspirillum</i> sp 4	Raíz	1,88
<i>Burkholderia</i> sp 21	Raíz	1,87
<i>Gluconacetobacter</i> sp 15	Tallo	1,87
<i>Azospirillum</i> sp.43	Raíz	1,86
<i>Burkholderia</i> sp 28	Raíz	1,85
<i>Herbaspirillum</i> sp 36	Raíz	1,85
<i>Gluconacetobacter</i> sp 61	Tallo	1,85
<i>Gluconacetobacter</i> sp 55	Tallo	1,84
<i>Burkholderia</i> sp 14	Raíz	1,83
<i>Bacillus</i> sp 12	Raíz	1,83
<i>Azospirillum</i> sp.8	Raíz	1,82
<i>Burkholderia</i> sp 29	Raíz	1,82
<i>Burkholderia</i> sp 43	Raíz	1,81
<i>Azospirillum</i> sp. 57	Tallo	1,81
<i>Gluconacetobacter</i> sp 35	Tallo	1,81
<i>Gluconacetobacter</i> sp 53	Tallo	1,81
<i>Azospirillum</i> sp.25	Raíz	1,78
<i>Azospirillum</i> sp.45	Raíz	1,78
<i>Burkholderia</i> sp 41	Raíz	1,78
<i>Gluconacetobacter</i> sp 19	Tallo	1,78
<i>Azospirillum</i> sp.19	Raíz	1,77
<i>Burkholderia</i> sp 38	Raíz	1,76
<i>Herbaspirillum</i> sp 53	Tallo	1,76
<i>Gluconacetobacter</i> sp 20	Tallo	1,76
<i>Gluconacetobacter</i> sp 51	Tallo	1,76
<i>Bacillus</i> sp 14	Raíz	1,73
<i>Herbaspirillum</i> sp 60	Tallo	1,73
<i>Burkholderia</i> sp 34	Raíz	1,72
<i>Azospirillum</i> sp. 64	Tallo	1,72
<i>Herbaspirillum</i> sp 42	Raíz	1,71
<i>Gluconacetobacter</i> sp 17	Tallo	1,71
<i>Burkholderia</i> sp 9	Raíz	1,69
<i>Burkholderia</i> sp 23	Raíz	1,68
<i>Bacillus</i> sp 62	Tallo	1,67
<i>Azospirillum</i> sp.24	Raíz	1,66
<i>Azospirillum</i> sp.23	Raíz	1,65
<i>Burkholderia</i> sp. 48	Tallo	1,65
<i>Azospirillum</i> sp.53	Raíz	1,64
<i>Azospirillum</i> sp.30	Raíz	1,63

continuación.....

Bacteria	Procedencia	Índice de solubilización
<i>Burkholderia</i> sp 18	Raíz	1,62
<i>Burkholderia</i> sp. 50	Tallo	1,61
<i>Herbaspirillum</i> sp 57	Tallo	1,61
<i>Gluconacetobacter</i> sp 11	Tallo	1,60
<i>Azospirillum</i> sp.34	Raíz	1,59
<i>Azospirillum</i> sp. 65	Tallo	1,59
<i>Azospirillum</i> sp. 68	Tallo	1,59
<i>Azospirillum</i> sp.42	Raíz	1,58
<i>Gluconacetobacter</i> sp 57	Tallo	1,58
<i>Azospirillum</i> sp. 58	Raíz	1,57
<i>Gluconacetobacter</i> sp 24	Tallo	1,56
<i>Azospirillum</i> sp.48	Raíz	1,55
<i>Herbaspirillum</i> sp 8	Raíz	1,55
<i>Azospirillum</i> sp.33	Raíz	1,54
<i>Burkholderia</i> sp 40	Raíz	1,54
<i>Gluconacetobacter</i> sp 66	Tallo	1,54
<i>Bacillus</i> sp 67	Tallo	1,54
<i>Bacillus</i> sp 78	Tallo	1,54
<i>Azospirillum</i> sp.13	Raíz	1,53
<i>Burkholderia</i> sp 24	Raíz	1,53
<i>Herbaspirillum</i> sp 11	Raíz	1,52
<i>Bacillus</i> sp 11	Raíz	1,51
<i>Azospirillum</i> sp.40	Raíz	1,48
<i>Burkholderia</i> sp 19	Raíz	1,48
<i>Burkholderia</i> sp 37	Raíz	1,48
<i>Azospirillum</i> sp. 51	Tallo	1,48
<i>Azospirillum</i> sp.16	Raíz	1,46
<i>Burkholderia</i> sp. 44	Tallo	1,45
<i>Gluconacetobacter</i> sp 64	Tallo	1,45
<i>Azospirillum</i> sp. 55	Tallo	1,44
<i>Burkholderia</i> sp 35	Raíz	1,43
<i>Herbaspirillum</i> sp 50	Raíz	1,43
<i>Gluconacetobacter</i> sp 36	Tallo	1,43
<i>Azospirillum</i> sp.37	Raíz	1,42
<i>Herbaspirillum</i> sp 33	Raíz	1,42
<i>Gluconacetobacter</i> sp 70	Tallo	1,42
<i>Herbaspirillum</i> sp 56	Raíz	1,41
<i>Bacillus</i> sp 24	Raíz	1,41
<i>Herbaspirillum</i> sp 48	Tallo	1,41
<i>Gluconacetobacter</i> sp 27	Tallo	1,40
<i>Azospirillum</i> sp.44	Raíz	1,38
<i>Gluconacetobacter</i> sp 42	Tallo	1,38

continuación.....

Bacteria	Procedencia	Índice de solubilización
<i>Herbaspirillum</i> sp 58	Raíz	1,37
<i>Bacillus</i> sp 64	Tallo	1,36
<i>Azospirillum</i> sp.18	Raíz	1,34
<i>Burkholderia</i> sp 11	Raíz	1,34
<i>Gluconacetobacter</i> sp 23	Tallo	1,34
<i>Gluconacetobacter</i> sp 69	Tallo	1,34
<i>Azospirillum</i> sp.49	Raíz	1,33
<i>Burkholderia</i> sp. 47	Tallo	1,32
<i>Bacillus</i> sp 71	Tallo	1,32
<i>Herbaspirillum</i> sp 39	Raíz	1,30
<i>Herbaspirillum</i> sp 27	Raíz	1,29
<i>Gluconacetobacter</i> sp 5	Raíz	1,28
<i>Gluconacetobacter</i> sp 31	Tallo	1,28
<i>Gluconacetobacter</i> sp 58	Tallo	1,28
<i>Burkholderia</i> sp 22	Raíz	1,25
<i>Bacillus</i> sp 17	Raíz	1,25
<i>Bacillus</i> sp 29	Raíz	1,25
<i>Bacillus</i> sp 70	Tallo	1,25
<i>Bacillus</i> sp 34	Raíz	1,24
<i>Azospirillum</i> sp. 60	Tallo	1,21
<i>Bacillus</i> sp 65	Tallo	1,21
<i>Bacillus</i> sp 9	Raíz	1,20
<i>Burkholderia</i> sp 4	Raíz	1,19
<i>Gluconacetobacter</i> sp 33	Tallo	1,18
<i>Azospirillum</i> sp.62	Raíz	1,17
<i>Azospirillum</i> sp.46	Raíz	1,17
<i>Azospirillum</i> sp.50	Raíz	1,14
<i>Bacillus</i> sp 42	Tallo	1,14
<i>Burkholderia</i> sp 26	Raíz	1,13
<i>Bacillus</i> sp 55	Tallo	1,13
<i>Burkholderia</i> sp 39	Raíz	1,12
<i>Bacillus</i> sp 33	Raíz	1,12
<i>Gluconacetobacter</i> sp 10	Tallo	1,12
<i>Bacillus</i> sp 52	Tallo	1,12
<i>Azospirillum</i> sp.11	Raíz	1,11
<i>Herbaspirillum</i> sp 37	Raíz	1,11
<i>Bacillus</i> sp 40	Tallo	1,11
<i>Gluconacetobacter</i> sp 76	Tallo	1,04
<i>Herbaspirillum</i> sp 43	Raíz	1,02
<i>Burkholderia</i> sp 1	Raíz	1,01
<i>Bacillus</i> sp 23	Raíz	1,00

continuación.....

Bacteria	Procedencia	Índice de solubilización
<i>Herbaspirillum</i> sp 40	Raíz	0,99
<i>Bacillus</i> sp 36	Raíz	0,99
<i>Bacillus</i> sp 47	Tallo	0,91
<i>Burkholderia</i> sp 30	Raíz	0,90
<i>Herbaspirillum</i> sp 1	Raíz	0,89
<i>Gluconacetobacter</i> sp 62	Tallo	0,89
<i>Bacillus</i> sp 48	Tallo	0,87
<i>Bacillus</i> sp 56	Tallo	0,87
<i>Burkholderia</i> sp 36	Raíz	0,81
<i>Bacillus</i> sp 22	Raíz	0,81
<i>Bacillus</i> sp 72	Tallo	0,81
<i>Bacillus</i> sp 37	Tallo	0,78
<i>Bacillus</i> sp 75	Tallo	0,74
<i>Bacillus</i> sp 27	Raíz	0,71
<i>Burkholderia</i> sp 20	Raíz	0,70
<i>Bacillus</i> sp 7	Raíz	0,69
<i>Bacillus</i> sp 10	Raíz	0,50

ANEXO 3

Bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno que produjeron ácido indol acético.

Bacteria	Procedencia	AIA
<i>Azospirillum</i> sp.36	Raíz	70,45
<i>Gluconacetobacter</i> sp 6	Raíz	68,39
<i>Gluconacetobacter</i> sp 22	Tallo	65,06
<i>Azospirillum</i> sp.21	Raíz	63,61
<i>Burkholderia</i> sp. 5	Raíz	59,30
<i>Herbaspirillum</i> sp 21	Raíz	53,81
<i>Azospirillum</i> sp. 26	Tallo	51,30
<i>Azospirillum</i> sp.20	Raíz	48,27
<i>Azospirillum</i> sp. 28	Tallo	46,58
<i>Azospirillum</i> sp. 15	Tallo	45,38
<i>Azospirillum</i> sp. 10	Tallo	45,30
<i>Herbaspirillum</i> sp 15	Tallo	44,70
<i>Azospirillum</i> sp.7	Raíz	44,50
<i>Azospirillum</i> sp.39	Raíz	43,91
<i>Azospirillum</i> sp.12	Raíz	41,72
<i>Azospirillum</i> sp.3	Raíz	40,67
<i>Herbaspirillum</i> sp 17	Raíz	40,14
<i>Herbaspirillum</i> sp 23	Raíz	39,36
<i>Azospirillum</i> sp.2	Raíz	38,90
<i>Herbaspirillum</i> sp 27	Tallo	38,28
<i>Azospirillum</i> sp.47	Raíz	37,80
<i>Azospirillum</i> sp. 1	Raíz	37,43
<i>Herbaspirillum</i> sp 22	Raíz	36,32
<i>Azospirillum</i> sp. 52	Tallo	35,41
<i>Herbaspirillum</i> sp 29	Raíz	35,21
<i>Azospirillum</i> sp.25	Raíz	34,92
<i>Azospirillum</i> sp.22	Raíz	34,61
<i>Azospirillum</i> sp.42	Raíz	34,37
<i>Azospirillum</i> sp. 61	Tallo	33,80
<i>Burkholderia</i> sp. 2	Tallo	33,73
<i>Azospirillum</i> sp.31	Raíz	33,51
<i>Azospirillum</i> sp.67	Raíz	33,40
<i>Azospirillum</i> sp. 59	Tallo	32,8
<i>Azospirillum</i> sp.40	Raíz	32,20
<i>Azospirillum</i> sp.6	Raíz	31,21
<i>Azospirillum</i> sp.35	Raíz	31,04
<i>Gluconacetobacter</i> sp 12	Tallo	30,82
<i>Azospirillum</i> sp. 56	Tallo	30,81
<i>Azospirillum</i> sp.24	Raíz	30,72
<i>Azospirillum</i> sp.32	Raíz	30,61
<i>Azospirillum</i> sp.29	Raíz	30,41
<i>Herbaspirillum</i> sp 25	Raíz	30,41

continuación.....

Bacteria	Procedencia	AIA
<i>Herbaspirillum</i> sp 26	Raíz	29,41
<i>Azospirillum</i> sp. 66	Tallo	29,40
<i>Azospirillum</i> sp.27	Raíz	29,31
<i>Azospirillum</i> sp.38	Raíz	29,31
<i>Herbaspirillum</i> sp 38	Tallo	29,31
<i>Gluconacetobacter</i> sp 26	Tallo	29,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp 60	Tallo	28,49
<i>Azospirillum</i> sp. 68	Tallo	28,45
<i>Gluconacetobacter</i> sp 1	Raíz	28,41
<i>Gluconacetobacter</i> sp 13	Tallo	28,35
<i>Azospirillum</i> sp. 65	Tallo	28,32
<i>Azospirillum</i> sp.50	Raíz	28,31
<i>Burkholderia</i> sp. 10	Raíz	28,24
<i>Azospirillum</i> sp.30	Raíz	27,62
<i>Azospirillum</i> sp.37	Raíz	27,61
<i>Azospirillum</i> sp.43	Raíz	27,42
<i>Gluconacetobacter</i> sp 28	Raíz	27,39
<i>Herbaspirillum</i> sp 24	Tallo	27,32
<i>Azospirillum</i> sp.14	Raíz	27,21
<i>Gluconacetobacter</i> sp 21	Tallo	26,72
<i>Gluconacetobacter</i> sp 8	Raíz	26,42
<i>Herbaspirillum</i> sp 18	Raíz	26,41
<i>Azospirillum</i> sp.9	Raíz	26,35
<i>Gluconacetobacter</i> sp 61	Tallo	26,31
<i>Burkholderia</i> sp. 15	Tallo	26,21
<i>Azospirillum</i> sp.16	Raíz	26,01
<i>Herbaspirillum</i> sp 19	Tallo	25,81
<i>Azospirillum</i> sp.34	Raíz	25,60
<i>Gluconacetobacter</i> sp 16	Tallo	25,58
<i>Burkholderia</i> sp. 8	Raíz	25,35
<i>Gluconacetobacter</i> sp 79	Tallo	25,35
<i>Gluconacetobacter</i> sp 18	Raíz	25,32
<i>Burkholderia</i> sp. 33	Tallo	25,31
<i>Azospirillum</i> sp.19	Raíz	25,14
<i>Azospirillum</i> sp.23	Raíz	24,82
<i>Gluconacetobacter</i> sp 14	Tallo	24,53
<i>Azospirillum</i> sp. 64	Tallo	23,81
<i>Burkholderia</i> sp. 31	Raíz	23,80
<i>Azospirillum</i> sp. 58	Raíz	23,21
<i>Azospirillum</i> sp.13	Raíz	22,92
<i>Azospirillum</i> sp. 55	Tallo	22,45
<i>Gluconacetobacter</i> sp 45	Tallo	22,39

continuación.....

Bacteria	Procedencia	AIA
<i>Azospirillum</i> sp.17	Raíz	22,31
<i>Azospirillum</i> sp.18	Raíz	22,14
<i>Gluconacetobacter</i> sp 30	Tallo	21,80
<i>Bacillus</i> sp 44	Tallo	21,13
<i>Azospirillum</i> sp.62	Raíz	21,07
<i>Azospirillum</i> sp. 54	Tallo	20,81
<i>Azospirillum</i> sp.33	Raíz	20,41
<i>Gluconacetobacter</i> sp 3	Raíz	20,32
<i>Azospirillum</i> sp.8	Raíz	20,31
<i>Herbaspirillum</i> sp 16	Raíz	20,31
<i>Azospirillum</i> sp. 63	Tallo	19,70
<i>Burkholderia</i> sp. 19	Tallo	19,21
<i>Azospirillum</i> sp.45	Raíz	19,06
<i>Gluconacetobacter</i> sp 69	Tallo	19,05
<i>Gluconacetobacter</i> sp 77	Tallo	19,02
<i>Azospirillum</i> sp.11	Raíz	18,92
<i>Gluconacetobacter</i> sp 50	Tallo	18,92
<i>Azospirillum</i> sp.44	Raíz	18,90
<i>Burkholderia</i> sp. 17	Raíz	18,81
<i>Burkholderia</i> sp. 16	Raíz	18,50
<i>Gluconacetobacter</i> sp 25	Tallo	18,42
<i>Burkholderia</i> sp. 3	Raíz	18,41
<i>Burkholderia</i> sp. 7	Tallo	18,40
<i>Gluconacetobacter</i> sp 56	Tallo	18,38
<i>Azospirillum</i> sp.4	Raíz	18,30
<i>Azospirillum</i> sp.5	Raíz	18,23
<i>Gluconacetobacter</i> sp 39	Tallo	18,15
<i>Gluconacetobacter</i> sp 67	Tallo	17,98
<i>Gluconacetobacter</i> sp 78	Tallo	17,93
<i>Gluconacetobacter</i> sp 64	Tallo	17,89
<i>Herbaspirillum</i> sp 8	Raíz	17,81
<i>Azospirillum</i> sp. 60	Tallo	17,81
<i>Burkholderia</i> sp. 6	Raíz	17,38
<i>Gluconacetobacter</i> sp 49	Tallo	17,32
<i>Azospirillum</i> sp.46	Raíz	17,06
<i>Gluconacetobacter</i> sp 38	Tallo	16,89
<i>Herbaspirillum</i> sp 31	Raíz	16,81
<i>Gluconacetobacter</i> sp 57	Tallo	16,67
<i>Herbaspirillum</i> sp 4	Raíz	16,35
<i>Gluconacetobacter</i> sp 47	Tallo	16,25
<i>Burkholderia</i> sp. 12	Raíz	16,23

continuación.....

Bacteria	Procedencia	AIA
<i>Herbaspirillum</i> sp 41	Raíz	16,22
<i>Bacillus</i> sp 38	Tallo	16,21
<i>Burkholderia</i> sp. 13	Raíz	16,18
<i>Gluconacetobacter</i> sp 36	Tallo	16,15
<i>Gluconacetobacter</i> sp 52	Tallo	16,15
<i>Gluconacetobacter</i> sp 17	Tallo	16,14
<i>Gluconacetobacter</i> sp 24	Tallo	16,14
<i>Gluconacetobacter</i> sp 68	Tallo	16,14
<i>Gluconacetobacter</i> sp 19	Tallo	16,13
<i>Azospirillum</i> sp.53	Raíz	15,41
<i>Herbaspirillum</i> sp 42	Raíz	15,35
<i>Herbaspirillum</i> sp 2	Raíz	15,32
<i>Burkholderia</i> sp. 32	Raíz	15,28
<i>Azospirillum</i> sp. 57	Tallo	15,28
<i>Herbaspirillum</i> sp 37	Raíz	15,21
<i>Gluconacetobacter</i> sp 75	Tallo	15,15
<i>Gluconacetobacter</i> sp 20	Tallo	15,13
<i>Gluconacetobacter</i> sp 35	Tallo	15,13
<i>Gluconacetobacter</i> sp 72	Tallo	15,05
<i>Burkholderia</i> sp. 29	Raíz	15,01
<i>Burkholderia</i> sp. 35	Raíz	14,96
<i>Azospirillum</i> sp.48	Raíz	14,95
<i>Burkholderia</i> sp. 28	Raíz	14,90
<i>Gluconacetobacter</i> sp 46	Tallo	14,86
<i>Burkholderia</i> sp. 39	Raíz	14,38
<i>Gluconacetobacter</i> sp 9	Tallo	14,23
<i>Azospirillum</i> sp. 51	Tallo	14,18
<i>Gluconacetobacter</i> sp 23	Tallo	14,17
<i>Burkholderia</i> sp. 9	Raíz	14,15
<i>Burkholderia</i> sp. 45	Raíz	14,09
<i>Burkholderia</i> sp. 14	Raíz	14,01
<i>Burkholderia</i> sp. 37	Raíz	13,93
<i>Burkholderia</i> sp. 22	Raíz	13,91
<i>Herbaspirillum</i> sp 11	Raíz	13,91
<i>Herbaspirillum</i> sp 1	Raíz	13,81
<i>Gluconacetobacter</i> sp 37	Tallo	13,48
<i>Burkholderia</i> sp. 38	Raíz	13,38
<i>Herbaspirillum</i> sp 58	Raíz	13,22
<i>Gluconacetobacter</i> sp 29	Tallo	13,15
<i>Burkholderia</i> sp. 24	Raíz	13,10
<i>Burkholderia</i> sp. 25	Raíz	13,02
<i>Gluconacetobacter</i> sp 73	Tallo	12,96

continuación.....

Bacteria	Procedencia	AIA
<i>Burkholderia</i> sp. 40	Raíz	12,95
<i>Burkholderia</i> sp. 4	Raíz	12,93
<i>Burkholderia</i> sp. 26	Raíz	12,92
<i>Burkholderia</i> sp. 21	Raíz	12,84
<i>Gluconacetobacter</i> sp 40	Tallo	12,78
<i>Herbaspirillum</i> sp 54	Raíz	12,61
<i>Gluconacetobacter</i> sp 33	Tallo	12,48
<i>Gluconacetobacter</i> sp 54	Tallo	12,48
<i>Bacillus</i> sp 76	Tallo	12,48
<i>Herbaspirillum</i> sp 43	Raíz	12,40
<i>Gluconacetobacter</i> sp 63	Tallo	12,10
<i>Burkholderia</i> sp. 50	Tallo	12,03
<i>Burkholderia</i> sp. 11	Raíz	11,98
<i>Gluconacetobacter</i> sp 43	Tallo	11,90
<i>Herbaspirillum</i> sp 56	Raíz	11,82
<i>Herbaspirillum</i> sp 48	Tallo	11,81
<i>Bacillus</i> sp 77	Tallo	11,34
<i>Herbaspirillum</i> sp 36	Raíz	11,23
<i>Burkholderia</i> sp. 1	Raíz	11,21
<i>Gluconacetobacter</i> sp 11	Tallo	11,18
<i>Bacillus</i> sp 31	Raíz	11,09
<i>Gluconacetobacter</i> sp 71	Tallo	11,08
<i>Gluconacetobacter</i> sp 66	Tallo	11,07
<i>Bacillus</i> sp 56	Tallo	11,05
<i>Herbaspirillum</i> sp 34	Raíz	11,03
<i>Burkholderia</i> sp. 46	Raíz	11,02
<i>Bacillus</i> sp 26	Raíz	11,02
<i>Herbaspirillum</i> sp 10	Raíz	11,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp 32	Tallo	10,98
<i>Burkholderia</i> sp. 18	Raíz	10,92
<i>Herbaspirillum</i> sp 49	Tallo	10,92
<i>Bacillus</i> sp 52	Tallo	10,92
<i>Bacillus</i> sp 66	Tallo	10,92
<i>Herbaspirillum</i> sp 46	Raíz	10,91
<i>Burkholderia</i> sp. 36	Raíz	10,85
<i>Herbaspirillum</i> sp 5	Raíz	10,81
<i>Herbaspirillum</i> sp 40	Raíz	10,81
<i>Gluconacetobacter</i> sp 74	Tallo	10,78
<i>Burkholderia</i> sp. 23	Raíz	10,71
<i>Bacillus</i> sp 16	Raíz	10,56
<i>Herbaspirillum</i> sp 60	Tallo	10,42

continuación.....

Bacteria	Procedencia	AIA
<i>Gluconacetobacter</i> sp 10	Tallo	10,34
<i>Bacillus</i> sp 39	Tallo	10,23
<i>Herbaspirillum</i> sp 55	Tallo	10,21
<i>Bacillus</i> sp 20	Raíz	10,17
<i>Bacillus</i> sp 54	Tallo	10,15
<i>Bacillus</i> sp 34	Raíz	10,13
<i>Bacillus</i> sp 68	Tallo	10,12
<i>Burkholderia</i> sp. 43	Raíz	10,11
<i>Bacillus</i> sp 12	Raíz	10,11
<i>Bacillus</i> sp 49	Tallo	10,09
<i>Bacillus</i> sp 4	Raíz	10,07
<i>Gluconacetobacter</i> sp 65	Tallo	10,06
<i>Bacillus</i> sp 7	Raíz	10,05
<i>Bacillus</i> sp 24	Raíz	10,01
<i>Bacillus</i> sp 29	Raíz	10,00
<i>Burkholderia</i> sp. 49	Raíz	9,81
<i>Herbaspirillum</i> sp 12	Raíz	9,81
<i>Burkholderia</i> sp. 41	Raíz	9,52
<i>Herbaspirillum</i> sp 53	Tallo	9,44
<i>Burkholderia</i> sp. 48	Tallo	9,36
<i>Bacillus</i> sp 43	Tallo	9,13
<i>Bacillus</i> sp 55	Tallo	9,09
<i>Bacillus</i> sp 6	Raíz	9,08
<i>Bacillus</i> sp 48	Tallo	9,08
<i>Bacillus</i> sp 37	Tallo	9,07
<i>Herbaspirillum</i> sp 32	Raíz	9,06
<i>Bacillus</i> sp 15	Raíz	9,06
<i>Bacillus</i> sp 19	Raíz	9,06
<i>Bacillus</i> sp 40	Tallo	9,06
<i>Bacillus</i> sp 22	Raíz	9,05
<i>Bacillus</i> sp 46	Tallo	9,04
<i>Herbaspirillum</i> sp 7	Raíz	9,03
<i>Bacillus</i> sp 13	Raíz	9,03
<i>Bacillus</i> sp 50	Tallo	9,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp 4	Tallo	8,99
<i>Gluconacetobacter</i> sp 34	Tallo	8,92
<i>Burkholderia</i> sp. 42	Tallo	8,82
<i>Bacillus</i> sp 27	Raíz	8,79
<i>Gluconacetobacter</i> sp 59	Tallo	8,75
<i>Herbaspirillum</i> sp 47	Tallo	8,54
<i>Herbaspirillum</i> sp 30	Raíz	8,45

continuación.....

Bacteria	Procedencia	AIA
<i>Gluconacetobacter</i> sp 41	Tallo	8,37
<i>Gluconacetobacter</i> sp 53	Tallo	8,60
<i>Bacillus</i> sp 73	Tallo	8,23
<i>Burkholderia</i> sp. 20	Raíz	8,19
<i>Bacillus</i> sp 45	Tallo	8,09
<i>Bacillus</i> sp 41	Tallo	8,08
<i>Bacillus</i> sp 8	Raíz	8,07
<i>Bacillus</i> sp 64	Tallo	8,06
<i>Bacillus</i> sp 51	Tallo	8,05
<i>Bacillus</i> sp 53	Tallo	8,04
<i>Burkholderia</i> sp. 27	Raíz	7,93
<i>Burkholderia</i> sp. 44	Tallo	7,93
<i>Herbaspirillum</i> sp 13	Raíz	7,92
<i>Bacillus</i> sp 18	Raíz	7,89
<i>Herbaspirillum</i> sp 51	Tallo	7,89
<i>Bacillus</i> sp 9	Raíz	7,86
<i>Burkholderia</i> sp. 34	Raíz	7,81
<i>Bacillus</i> sp 74	Tallo	7,79
<i>Bacillus</i> sp 71	Tallo	7,77
<i>Bacillus</i> sp 69	Tallo	7,64
<i>Herbaspirillum</i> sp 59	Tallo	7,59
<i>Burkholderia</i> sp. 47	Tallo	7,45
<i>Bacillus</i> sp 63	Tallo	7,43
<i>Herbaspirillum</i> sp 14	Raíz	7,35
<i>Bacillus</i> sp 60	Tallo	7,23
<i>Bacillus</i> sp 57	Tallo	7,12
<i>Herbaspirillum</i> sp 57	Tallo	6,99
<i>Bacillus</i> sp 35	Raíz	6,92
<i>Bacillus</i> sp 2	Raíz	6,90
<i>Bacillus</i> sp 61	Tallo	6,90
<i>Bacillus</i> sp 59	Tallo	6,89
<i>Herbaspirillum</i> sp 52	Tallo	6,88
<i>Bacillus</i> sp 70	Tallo	6,78
<i>Gluconacetobacter</i> sp 44	Tallo	6,14
<i>Burkholderia</i> sp. 30	Raíz	6,13
<i>Herbaspirillum</i> sp 45	Raíz	6,08
<i>Bacillus</i> sp 58	Tallo	6,08
<i>Bacillus</i> sp 32	Raíz	5,20
<i>Bacillus</i> sp 1	Raíz	5,12
<i>Bacillus</i> sp 30	Raíz	4,05

ANEXO 4

Bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno que solubilizaron fosfato tricálcico y produjeron ácido indol acético.

Bacteria	Índices de solubilización	AIA
<i>Azospirillum</i> sp.36	4,12	70,45
<i>Azospirillum</i> sp.21	3,49	63,10
<i>Azospirillum</i> sp. 15	3,25	49,17
<i>Azospirillum</i> sp. 1	2,41	37,43
<i>Azospirillum</i> sp.2	2,92	38,00
<i>Azospirillum</i> sp.3	3,10	40,67
<i>Azospirillum</i> sp.5	1,91	18,23
<i>Azospirillum</i> sp.7	2,83	44,50
<i>Azospirillum</i> sp.8	1,82	20,31
<i>Azospirillum</i> sp.53	1,64	15,41
<i>Azospirillum</i> sp.11	1,11	18,92
<i>Azospirillum</i> sp.12	2,32	41,72
<i>Azospirillum</i> sp.13	1,53	22,92
<i>Azospirillum</i> sp. 58	1,57	23,21
<i>Azospirillum</i> sp.16	1,46	26,01
<i>Azospirillum</i> sp.18	1,34	22,14
<i>Azospirillum</i> sp.19	1,77	25,14
<i>Azospirillum</i> sp.20	2,33	48,27
<i>Azospirillum</i> sp.23	1,65	24,82
<i>Azospirillum</i> sp.24	1,66	30,72
<i>Azospirillum</i> sp.25	1,78	34,92
<i>Azospirillum</i> sp.62	1,17	21,07
<i>Azospirillum</i> sp.27	1,94	29,31
<i>Azospirillum</i> sp.67	1,97	33,40
<i>Azospirillum</i> sp.30	1,63	27,62
<i>Azospirillum</i> sp.32	1,98	30,61
<i>Azospirillum</i> sp.33	1,54	20,41
<i>Azospirillum</i> sp.34	1,59	25,60
<i>Azospirillum</i> sp.35	1,99	31,04
<i>Azospirillum</i> sp.37	1,42	27,61
<i>Azospirillum</i> sp.39	2,11	43,91
<i>Azospirillum</i> sp.40	1,48	32,20
<i>Azospirillum</i> sp.42	1,58	34,37
<i>Azospirillum</i> sp.43	1,86	27,42
<i>Azospirillum</i> sp.44	1,38	18,90
<i>Azospirillum</i> sp.45	1,78	19,06
<i>Azospirillum</i> sp.46	1,17	17,06
<i>Azospirillum</i> sp.47	1,95	37,80
<i>Azospirillum</i> sp.48	1,55	14,95
<i>Azospirillum</i> sp.50	1,14	28,31
<i>Azospirillum</i> sp. 51	1,48	14,18
<i>Azospirillum</i> sp. 10	2,12	45,30
<i>Azospirillum</i> sp. 55	1,44	22,45

continuación.....

Bacteria	Índices de solubilización	AIA
<i>Azospirillum</i> sp. 57	1,81	15,28
<i>Azospirillum</i> sp. 60	1,21	17,81
<i>Azospirillum</i> sp. 26	2,99	51,3
<i>Azospirillum</i> sp. 63	1,95	19,70
<i>Azospirillum</i> sp. 64	1,72	23,81
<i>Azospirillum</i> sp. 65	1,59	28,32
<i>Azospirillum</i> sp. 28	3,23	46,58
<i>Azospirillum</i> sp. 68	1,59	28,45
<i>Bacillus</i> sp 44	1,90	21,13
<i>Bacillus</i> sp 38	2,20	16,21
<i>Bacillus</i> sp 12	1,83	10,11
<i>Bacillus</i> sp 7	0,69	10,05
<i>Bacillus</i> sp 9	1,20	7,86
<i>Bacillus</i> sp 22	0,81	9,05
<i>Bacillus</i> sp 24	1,41	10,01
<i>Bacillus</i> sp 27	0,71	8,79
<i>Bacillus</i> sp 29	1,25	10,00
<i>Bacillus</i> sp 34	1,24	10,13
<i>Bacillus</i> sp 37	0,78	9,07
<i>Bacillus</i> sp 40	1,11	9,06
<i>Bacillus</i> sp 48	0,87	9,08
<i>Bacillus</i> sp 52	1,12	10,92
<i>Bacillus</i> sp 53	1,89	8,04
<i>Bacillus</i> sp 55	1,13	9,09
<i>Bacillus</i> sp 56	0,87	11,05
<i>Bacillus</i> sp 64	1,36	8,06
<i>Bacillus</i> sp 70	1,25	6,78
<i>Bacillus</i> sp 71	1,32	7,77
<i>Burkholderia</i> sp 5	4,40	59,3
<i>Burkholderia</i> sp. 2	4,28	33,73
<i>Burkholderia</i> sp 10	4,07	28,24
<i>Burkholderia</i> sp 1	1,01	11,21
<i>Burkholderia</i> sp 41	1,78	9,52
<i>Burkholderia</i> sp 3	3,01	18,41
<i>Burkholderia</i> sp 4	1,19	12,93
<i>Burkholderia</i> sp 6	3,24	17,38
<i>Burkholderia</i> sp 43	1,81	10,11
<i>Burkholderia</i> sp 8	2,18	25,35
<i>Burkholderia</i> sp 9	1,69	14,15
<i>Burkholderia</i> sp 11	1,34	11,98
<i>Burkholderia</i> sp 13	2,45	16,18
<i>Burkholderia</i> sp 14	1,83	14,01

continuación.....

Bacteria	Índices de solubilización	AIA
<i>Burkholderia</i> sp 15	1,98	11,02
<i>Burkholderia</i> sp 16	2,93	18,50
<i>Burkholderia</i> sp 17	2,24	18,81
<i>Burkholderia</i> sp 18	1,62	10,92
<i>Burkholderia</i> sp 19	1,48	9,81
<i>Burkholderia</i> sp 20	0,70	8,19
<i>Burkholderia</i> sp 21	1,87	12,84
<i>Burkholderia</i> sp 22	1,25	13,10
<i>Burkholderia</i> sp 23	1,68	10,71
<i>Burkholderia</i> sp 24	1,53	13,10
<i>Burkholderia</i> sp 26	1,13	12,92
<i>Burkholderia</i> sp 27	1,96	7,93
<i>Burkholderia</i> sp 28	1,85	14,9
<i>Burkholderia</i> sp 29	1,82	15,01
<i>Burkholderia</i> sp 30	0,90	6,13
<i>Burkholderia</i> sp 31	2,52	23,80
<i>Burkholderia</i> sp 32	2,78	15,28
<i>Burkholderia</i> sp 45	1,88	14,09
<i>Burkholderia</i> sp 34	1,72	7,81
<i>Burkholderia</i> sp 35	1,43	14,96
<i>Burkholderia</i> sp 36	0,81	10,85
<i>Burkholderia</i> sp 37	1,48	13,93
<i>Burkholderia</i> sp 38	1,76	13,38
<i>Burkholderia</i> sp 39	1,12	14,38
<i>Burkholderia</i> sp 40	1,54	12,95
<i>Burkholderia</i> sp. 42	1,90	8,82
<i>Burkholderia</i> sp. 7	2,91	18,4
<i>Burkholderia</i> sp. 44	1,45	7,93
<i>Burkholderia</i> sp. 33	2,88	25,31
<i>Burkholderia</i> sp. 15	2,99	26,21
<i>Burkholderia</i> sp. 47	1,32	7,45
<i>Burkholderia</i> sp. 48	1,65	9,36
<i>Burkholderia</i> sp. 19	2,48	19,21
<i>Burkholderia</i> sp. 50	1,61	12,03
<i>Herbaspirillum</i> sp 21	3,59	53,81
<i>Herbaspirillum</i> sp 15	3,08	44,70
<i>Herbaspirillum</i> sp 17	2,56	40,14
<i>Herbaspirillum</i> sp 1	0,89	13,81
<i>Herbaspirillum</i> sp 2	1,90	15,32
<i>Herbaspirillum</i> sp 4	1,88	16,35
<i>Herbaspirillum</i> sp 8	1,55	17,81
<i>Herbaspirillum</i> sp 11	1,52	13,91

continuación.....

Bacteria	Índices de solubilización	AIA
<i>Herbaspirillum</i> sp 16	2,81	20,31
<i>Herbaspirillum</i> sp 18	2,23	26,41
<i>Herbaspirillum</i> sp 22	2,20	36,32
<i>Herbaspirillum</i> sp 23	2,13	39,36
<i>Herbaspirillum</i> sp 56	1,41	11,82
<i>Herbaspirillum</i> sp 25	2,38	30,41
<i>Herbaspirillum</i> sp 26	2,18	29,41
<i>Herbaspirillum</i> sp 27	1,29	12,61
<i>Herbaspirillum</i> sp 29	2,54	35,21
<i>Herbaspirillum</i> sp 36	1,85	11,23
<i>Herbaspirillum</i> sp 37	1,11	15,21
<i>Herbaspirillum</i> sp 58	1,37	13,22
<i>Herbaspirillum</i> sp 40	0,99	10,81
<i>Herbaspirillum</i> sp 42	1,71	15,35
<i>Herbaspirillum</i> sp 43	1,02	12,40
<i>Herbaspirillum</i> sp 48	1,41	11,81
<i>Herbaspirillum</i> sp 19	2,43	25,81
<i>Herbaspirillum</i> sp 51	1,89	7,89
<i>Herbaspirillum</i> sp 53	1,76	9,44
<i>Herbaspirillum</i> sp 27	2,29	38,28
<i>Herbaspirillum</i> sp 24	2,41	27,32
<i>Herbaspirillum</i> sp 57	1,61	6,99
<i>Herbaspirillum</i> sp 38	2,39	29,31
<i>Herbaspirillum</i> sp 60	1,73	10,42
<i>Gluconacetobacter</i> sp 6	4,40	68,39
<i>Gluconacetobacter</i> sp 22	3,96	65,06
<i>Gluconacetobacter</i> sp 12	3,50	30,82
<i>Gluconacetobacter</i> sp 1	2,90	28,41
<i>Gluconacetobacter</i> sp 3	2,99	20,32
<i>Gluconacetobacter</i> sp 8	3,27	26,42
<i>Gluconacetobacter</i> sp 10	1,12	10,34
<i>Gluconacetobacter</i> sp 11	1,60	11,18
<i>Gluconacetobacter</i> sp 13	2,91	28,35
<i>Gluconacetobacter</i> sp 14	2,78	24,53
<i>Gluconacetobacter</i> sp 16	3,01	25,58
<i>Gluconacetobacter</i> sp 17	1,71	16,14
<i>Gluconacetobacter</i> sp 18	2,90	14,23
<i>Gluconacetobacter</i> sp 19	1,78	16,13
<i>Gluconacetobacter</i> sp 20	1,76	15,13
<i>Gluconacetobacter</i> sp 21	2,53	26,72
<i>Gluconacetobacter</i> sp 23	1,34	14,17

continuación.....

Bacteria	Índices de solubilización	AIA
<i>Gluconacetobacter</i> sp 24	1,56	16,14
<i>Gluconacetobacter</i> sp 26	2,87	29,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp 28	2,88	8,99
<i>Gluconacetobacter</i> sp 30	2,99	21,48
<i>Gluconacetobacter</i> sp 32	1,99	10,98
<i>Gluconacetobacter</i> sp 33	1,18	12,48
<i>Gluconacetobacter</i> sp 35	1,81	15,13
<i>Gluconacetobacter</i> sp 36	1,43	16,15
<i>Gluconacetobacter</i> sp 38	1,90	16,89
<i>Gluconacetobacter</i> sp 39	2,00	18,15
<i>Gluconacetobacter</i> sp 40	2,12	12,78
<i>Gluconacetobacter</i> sp 43	2,05	11,90
<i>Gluconacetobacter</i> sp 45	2,32	22,39
<i>Gluconacetobacter</i> sp 47	2,70	16,25
<i>Gluconacetobacter</i> sp 50	1,92	18,92
<i>Gluconacetobacter</i> sp 53	1,81	8,36
<i>Gluconacetobacter</i> sp 54	2,24	12,48
<i>Gluconacetobacter</i> sp 57	1,58	16,67
<i>Gluconacetobacter</i> sp 60	2,45	28,49
<i>Gluconacetobacter</i> sp 61	1,85	26,31
<i>Gluconacetobacter</i> sp 64	1,45	17,89
<i>Gluconacetobacter</i> sp 66	1,54	11,07
<i>Gluconacetobacter</i> sp 69	1,34	19,05
<i>Gluconacetobacter</i> sp 72	1,89	15,05
<i>Gluconacetobacter</i> sp 73	1,95	12,96
<i>Gluconacetobacter</i> sp 75	2,02	15,15
<i>Gluconacetobacter</i> sp 77	1,98	19,02
<i>Gluconacetobacter</i> sp 79	2,76	25,35

ANEXO 5

Altura y peso de la biomasa aérea de plantas de Zea mays L. inoculadas con 60 bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno, aisladas de Saccharum officinarum L.

Tratamientos	Altura(cm)/días		Biomasa(g) 20 días	
	10	20	Fresca	Seca
Testigo (T0)	12,15 ±0,33	31,56 ±1,17	1,46 ±0,22	0,11 ±0,02
<i>Azospirillum</i> sp.1	13,23 ±0,25	33,67 ±1,53	1,75 ±0,05	0,14 ±0,02
<i>Azospirillum</i> sp.2	12,90 ±0,10	33,00 ±1,00	1,58 ±0,07	0,12 ±0,01
<i>Azospirillum</i> sp.3	13,00 ±0,20	34,33 ±0,58	1,77 ±0,06	0,16 ±0,01
<i>Azospirillum</i> sp.7	12,53 ±0,15	32,67 ±1,53	1,81 ±0,04	0,16 ±0,01
<i>Azospirillum</i> sp.10	13,13 ±0,41	34,33 ±0,58	1,68 ±0,03	0,12 ±0,01
<i>Azospirillum</i> sp.12	12,40 ±0,36	33,00 ±1,00	1,67 ±0,08	0,14 ±0,02
<i>Azospirillum</i> sp.15	12,60 ±0,20	33,33 ±1,15	1,84 ±0,05	0,15 ±0,01
<i>Azospirillum</i> sp.20	13,63 ±0,15	34,33 ±0,58	1,79 ±0,07	0,14 ±0,02
<i>Azospirillum</i> sp.21	13,07 ±0,40	32,00 ±1,00	1,85 ±0,06	0,15 ±0,01
<i>Azospirillum</i> sp.26	12,57 ±0,06	32,00 ±1,73	1,56 ±0,05	0,12 ±0,02
<i>Azospirillum</i> sp.28	13,13 ±0,32	32,33 ±1,15	1,67 ±0,06	0,14 ±0,01
<i>Azospirillum</i> sp.36	13,77 ±0,15	34,67 ±0,58	1,90 ±0,10	0,19 ±0,02
<i>Azospirillum</i> sp.39	12,53 ±0,31	33,00 ±1,00	1,67 ±0,06	0,13 ±0,01

* Promedio de tres repeticiones

.....Continuación

Tratamientos	Altura(cm)/días		Biomasa(g) 20 días	
	10	20	Fresca	Seca
<i>Burkholderia</i> sp.2	13,00 ±1,00	35,00 ±1,00	1,61 ±0,04	0,14 ±0,01
<i>Burkholderia</i> sp.3	12,13 ±0,32	34,67 ±0,58	1,39 ±0,03	0,14 ±0,02
<i>Burkholderia</i> sp.5	13,97 ±0,06	36,33 ±0,58	1,93 ±0,15	0,17 ±0,02
<i>Burkholderia</i> sp.6	11,20 ±0,10	35,33 ±0,58	1,68 ±0,04	0,14 ±0,01
<i>Burkholderia</i> sp.7	12,07 ±0,03	34,00 ±1,00	1,57 ±0,07	0,13 ±0,01
<i>Burkholderia</i> sp.8	11,43 ±0,15	35,00 ±1,00	1,48 ±0,02	0,15 ±0,01
<i>Burkholderia</i> sp.10	11,77 ±0,25	34,33 ±0,58	1,60 ±0,10	0,14 ±0,02
<i>Burkholderia</i> sp.13	12,27 ±0,64	34,67 ±0,58	1,42 ±0,03	0,15 ±0,01
<i>Burkholderia</i> sp.15	13,00 ±1,00	33,67 ±0,58	1,66 ±0,05	0,13 ±0,01
<i>Burkholderia</i> sp.16	12,00 ±0,50	33,33 ±0,58	1,61 ±0,02	0,14 ±0,02
<i>Burkholderia</i> sp.17	13,07 ±0,64	35,00 ±1,00	1,54 ±0,06	0,12 ±0,02
<i>Burkholderia</i> sp.19	12,87 ±0,15	33,67 ±1,15	1,72 ±0,07	0,16 ±0,01
<i>Burkholderia</i> sp.31	13,43 ±0,35	33,33 ±0,58	1,66 ±0,04	0,15 ±0,01
<i>Burkholderia</i> sp.32	12,27 ±0,21	35,67 ±0,58	1,84 ±0,05	0,16 ±0,01
<i>Burkholderia</i> sp.33	13,47 ±0,55	33,67 ±1,15	1,65 ±0,13	0,12 ±0,02

* Promedio de tres repeticiones

.....Continuación

Tratamientos	Altura(cm)/días		Biomasa(g) 20 días	
	10	20	Fresca	Seca
<i>Herbaspirillum</i> sp.15	13,50 ±0,50	36,00 ±1,00	1,83 ±0,11	0,17 ±0,01
<i>Herbaspirillum</i> sp.16	12,20 ±0,30	33,33 ±1,15	1,60 ±0,10	0,14 ±0,02
<i>Herbaspirillum</i> sp.17	13,73 ±0,15	36,00 ±1,00	1,40 ±0,10	0,16 ±0,01
<i>Herbaspirillum</i> sp.18	13,33 ±0,25	32,67 ±0,58	1,45 ±0,05	0,14 ±0,02
<i>Herbaspirillum</i> sp.19	13,50 ±0,30	36,33 ±0,58	1,85 ±0,13	0,16 ±0,01
<i>Herbaspirillum</i> sp.20	13,73 ±0,25	32,67 ±0,58	1,84 ±0,12	0,16 ±0,02
<i>Herbaspirillum</i> sp.21	13,87 ±0,21	36,67 ±0,58	1,90 ±0,09	0,18 ±0,02
<i>Herbaspirillum</i> sp.22	12,70 ±0,30	32,33 ±0,58	1,43 ±0,06	0,17 ±0,02
<i>Herbaspirillum</i> sp.23	13,40 ±0,20	34,33 ±0,58	1,87 ±0,11	0,15 ±0,02
<i>Herbaspirillum</i> sp.24	12,70 ±0,30	33,33 ±0,58	1,77 ±0,07	0,16 ±0,02
<i>Herbaspirillum</i> sp.25	13,00 ±0,20	34,67 ±1,15	1,76 ±0,13	0,16 ±0,02
<i>Herbaspirillum</i> sp.26	13,50 ±0,40	35,00 ±1,00	1,65 ±0,09	0,14 ±0,02
<i>Herbaspirillum</i> sp.27	12,37 ±0,21	36,00 ±1,00	1,87 ±0,08	0,16 ±0,01
<i>Herbaspirillum</i> sp.29	12,53 ±0,45	32,33 ±0,58	1,84 ±0,14	0,13 ±0,01
<i>Herbaspirillum</i> sp.38	12,67 ±0,50	33,67 ±0,58	1,85 ±0,05	0,14 ±0,02

* Promedio de tres repeticiones

.....Continuación

Tratamientos	Altura(cm)/días		Biomasa(g) 20 días	
	10	20	Fresca	Seca
<i>Gluconacetobacter</i> sp.1	11,50 ±0,30	35,67 ±0,58	1,68 ±0,11	0,13 ±0,02
<i>Gluconacetobacter</i> sp.3	10,77 ±0,21	33,33 ±0,58	1,73 ±0,09	0,16 ±0,02
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6	13,77 ±0,47	36,33 ±0,58	1,87 ±0,03	0,17 ±0,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp.8	13,37 ±0,25	33,67 ±0,58	1,68 ±0,03	0,16 ±0,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp.12	13,00 ±1,00	36,00 ±1,00	1,71 ±0,07	0,11 ±0,02
<i>Gluconacetobacter</i> sp.13	11,77 ±0,25	32,33 ±0,58	1,66 ±0,07	0,11 ±0,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp.14	11,37 ±0,42	33,00 ±1,00	1,39 ±0,03	0,13 ±0,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp.16	11,87 ±1,37	34,67 ±0,58	1,74 ±0,11	0,15 ±0,02
<i>Gluconacetobacter</i> sp.18	10,60 ±0,40	34,67 ±1,53	1,55 ±0,05	0,11 ±0,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp.21	12,00 ±1,00	33,33 ±0,58	1,49 ±0,09	0,13 ±0,02
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22	13,53 ±0,31	36,67 ±0,58	1,89 ±0,06	0,18 ±0,02
<i>Gluconacetobacter</i> sp.26	12,63 ±0,76	35,33 ±1,15	1,50 ±0,10	0,14 ±0,02
<i>Gluconacetobacter</i> sp.28	10,57 ±0,40	32,33 ±0,58	1,79 ±0,04	0,16 ±0,02
<i>Gluconacetobacter</i> sp.30	11,17 ±0,29	33,00 ±1,00	1,80 ±0,10	0,16 ±0,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp.45	11,47 ±0,55	32,33 ±0,58	1,68 ±0,09	0,13 ±0,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp.60	11,70 ±0,89	33,00 ±1,00	1,73 ±0,07	0,12 ±0,01
<i>Gluconacetobacter</i> sp.79	11,17 ±0,29	33,33 ±0,58	1,53 ±0,10	0,14 ±0,01

* Promedio de tres repeticiones

ANEXO 6

Altura y peso de la biomasa aérea de plantas de Zea mays L.

Tratamientos	Altura (cm)/días						Biomasa(g) 20 días					
	10			20			Fresca			Seca		
Testigo (0)	12,70	12,30	11,90	33	33	32	1,80	1,50	1,40	0,14	0,13	0,12
Testigo (0)	12,50	2,40	12,20	32	32	31	1,70	1,60	1,50	0,12	0,11	0,09
Testigo (0)	11,90	11,70	11,70	31	30	30	1,30	1,20	1,10	0,10	0,10	0,06
<i>Azospirillum</i> sp.1	13,50	13,20	13,00	35	34	32	1,80	1,76	1,70	0,16	0,14	0,13
<i>Azospirillum</i> sp.2	13,00	12,90	12,80	34	33	32	1,63	1,60	1,50	0,13	0,12	0,12
<i>Azospirillum</i> sp.3	13,20	13,00	12,80	35	34	34	1,84	1,76	1,72	0,17	0,16	0,16
<i>Azospirillum</i> sp.7	12,70	12,50	12,40	34	33	31	1,86	1,80	1,78	0,17	0,15	0,15
<i>Azospirillum</i> sp.10	13,60	13,00	12,80	35	34	34	1,71	1,67	1,65	0,13	0,12	0,11
<i>Azospirillum</i> sp.12	12,70	12,50	12,00	34	33	32	1,76	1,63	1,61	0,15	0,14	0,12

.....Continuación

Tratamientos	Altura (cm)/ días						Biomasa(g) 20 días					
	10			20			Fresca			Seca		
<i>Azospirillum</i> sp.15	12,80	12,60	12,40	34	34	32	1,90	1,82	1,80	0,16	0,15	0,15
<i>Azospirillum</i> sp.20	13,80	13,60	13,50	35	34	34	1,86	1,78	1,73	0,16	0,14	0,13
<i>Azospirillum</i> sp.21	13,50	13,00	12,70	33	32	31	1,90	1,86	1,78	0,16	0,15	0,14
<i>Azospirillum</i> sp.26	12,60	12,60	12,50	33	33	30	1,60	1,56	1,51	0,13	0,12	0,10
<i>Azospirillum</i> sp.28	13,50	13,00	12,90	33	33	31	1,72	1,68	1,60	0,15	0,13	0,14
<i>Azospirillum</i> sp.36	13,90	13,80	13,60	35	35	34	2,00	1,9	1,80	0,21	0,18	0,19
<i>Azospirillum</i> sp.39	12,80	12,60	12,20	34	33	32	1,72	1,68	1,61	0,14	0,13	0,12
<i>Burkholderia</i> sp.2	14,10	13,00	12,00	36	35	34	1,65	1,61	1,58	0,15	0,14	0,13
<i>Burkholderia</i> sp.3	12,50	12,00	11,90	35	35	34	1,39	1,42	1,36	0,15	0,14	0,12
<i>Burkholderia</i> sp.5	14,00	14,00	13,90	37	36	36	2,10	1,90	1,80	0,19	0,17	0,16
<i>Burkholderia</i> sp.6	11,30	11,20	11,10	36	35	35	1,72	1,68	1,65	0,15	0,13	0,13
<i>Burkholderia</i> sp.7	13,20	11,80	11,20	35	34	33	1,63	1,57	1,50	0,14	0,13	0,12
<i>Burkholderia</i> sp.8	11,60	11,40	11,30	36	35	34	1,50	1,48	1,46	0,16	0,15	0,14
<i>Burkholderia</i> sp.10	12,00	11,50	11,80	35	34	34	1,70	1,60	1,50	0,16	0,14	0,13
<i>Burkholderia</i> sp.13	13,00	13,00	11,80	35	35	34	1,45	1,42	1,39	0,16	0,15	0,14

.....continuación

Tratamientos	Altura (cm)/ días						Biomasa(g) 20 días					
	10			20			Fresca			Seca		
<i>Burkholderia</i> sp.15	14,00	13,00	12,00	34	34	33	1,70	1,67	1,60	0,14	0,12	0,12
<i>Burkholderia</i> sp.16	12,50	12,00	11,50	34	33	33	1,63	1,61	1,59	0,16	0,14	0,13
<i>Burkholderia</i> sp.17	13,80	12,80	12,60	36	35	34	1,60	1,53	1,49	0,14	0,12	0,11
<i>Burkholderia</i> sp.19	13,00	12,90	12,70	35	33	33	1,80	1,70	1,66	0,17	0,16	0,15
<i>Burkholderia</i> sp.31	13,80	13,40	13,10	34	33	33	1,70	1,62	1,66	0,16	0,14	0,15
<i>Burkholderia</i> sp.32	12,50	12,20	12,10	36	36	35	1,89	1,84	1,80	0,16	0,16	0,15
<i>Burkholderia</i> sp.33	14,00	13,50	12,90	35	33	33	1,74	1,70	1,50	0,13	0,12	0,10
<i>Herbaspirillum</i> sp.15	14,00	13,50	13,00	37	36	35	1,90	1,89	1,70	0,17	0,17	0,16
<i>Herbaspirillum</i> sp.16	12,50	12,20	11,90	34	34	32	1,70	1,60	1,50	0,15	0,14	0,12
<i>Herbaspirillum</i> sp.17	13,90	13,70	13,60	37	36	35	1,50	1,40	1,30	0,17	0,16	0,15
<i>Herbaspirillum</i> sp.18	13,60	13,30	13,10	33	33	32	1,50	1,45	1,41	0,16	0,14	0,13
<i>Herbaspirillum</i> sp.19	13,80	13,50	13,20	37	36	36	1,00	1,80	1,76	0,17	0,16	0,15
<i>Herbaspirillum</i> sp.20	14,00	13,70	13,50	33	33	32	1,94	1,88	1,70	0,18	0,16	0,15
<i>Herbaspirillum</i> sp.21	14,10	13,80	13,70	37	37	36	2,00	1,87	1,83	0,20	0,18	0,17

.....continuación

Tratamientos	Altura (cm)/ días						Biomasa(g) 20 días					
	10			20			Fresca			Seca		
<i>Herbaspirillum</i> sp.22	13,00	12,70	12,40	33	32	32	1,50	1,42	1,38	0,18	0,17	0,15
<i>Herbaspirillum</i> sp.23	13,60	13,40	13,20	35	34	34	1,98	1,85	1,77	0,17	0,15	0,14
<i>Herbaspirillum</i> sp.25	13,00	12,70	12,40	34	33	33	1,83	1,77	1,70	0,17	0,16	0,14
<i>Herbaspirillum</i> sp.26	13,20	13,00	12,80	36	34	34	1,90	1,72	1,65	0,18	0,16	0,15
<i>Herbaspirillum</i> sp.27	13,90	13,50	13,10	36	35	34	1,76	1,62	1,58	0,15	0,14	0,12
<i>Herbaspirillum</i> sp.28	12,60	12,30	12,20	37	36	35	1,96	1,84	1,82	0,17	0,16	0,15
<i>Herbaspirillum</i> sp.29	13,00	12,50	12,10	33	32	32	2,00	1,80	1,73	0,14	0,13	0,13
<i>Herbaspirillum</i> sp.38	13,20	12,60	12,20	34	34	33	1,90	1,86	1,80	0,15	0,14	0,12
<i>Gluconacetobacter</i> sp.1	11,80	11,50	11,20	36	36	35	1,79	1,68	1,57	0,15	0,13	0,12
<i>Gluconacetobacter</i> sp.3	11,00	10,70	10,60	34	33	33	1,82	1,73	1,65	0,18	0,16	0,15
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6	14,30	13,60	13,40	37	36	36	1,90	1,87	1,84	0,18	0,18	0,16
<i>Gluconacetobacter</i> sp.8	13,60	13,40	13,00	34	34	33	1,70	1,69	1,65	0,17	0,16	0,16
<i>Gluconacetobacter</i> sp.12	14,00	13,00	12,00	37	36	35	1,79	1,68	1,66	0,13	0,11	0,10
<i>Gluconacetobacter</i> sp.13	12,00	11,80	11,50	33	32	32	1,71	1,69	1,58	0,12	0,11	0,11
<i>Gluconacetobacter</i> sp.14	11,70	11,50	10,90	34	33	32	1,42	1,39	1,37	0,14	0,13	0,12
<i>Gluconacetobacter</i> sp.16	12,50	12,80	10,30	35	35	34	1,82	1,79	1,62	0,17	0,15	0,14

.....continuación

Tratamientos	Altura (cm)/ días						Biomasa(g) 20 días					
	10			20			Fresca			Seca		
<i>Gluconacetobacter</i> sp.18	11,00	10,60	10,20	36	35	33	1,60	1,54	1,50	0,12	0,11	0,11
<i>Gluconacetobacter</i> sp.21	13,00	12,00	11,00	34	33	33	1,60	1,45	1,43	0,14	0,13	0,11
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22	13,80	13,60	13,20	37	37	36	1,94	1,90	1,82	0,19	0,18	0,16
<i>Gluconacetobacter</i> sp.26	13,30	12,80	11,80	36	36	34	1,60	1,50	1,40	0,16	0,14	0,13
<i>Gluconacetobacter</i> sp.28	11,00	10,50	10,20	33	32	32	1,82	1,81	1,74	0,17	0,16	0,14
<i>Gluconacetobacter</i> sp.30	11,50	11,00	11,00	34	33	32	1,90	1,80	1,70	0,17	0,17	0,15
<i>Gluconacetobacter</i> sp.45	12,00	11,50	10,90	33	32	32	1,78	1,66	1,60	0,14	0,13	0,12
<i>Gluconacetobacter</i> sp.60	12,40	12,00	10,70	34	33	32	1,79	1,74	1,65	0,13	0,12	0,12
<i>Gluconacetobacter</i> sp.81	11,50	11,00	11,00	34	33	33	1,60	1,58	1,41	0,15	0,14	0,14

Anexo 7

Pruebas de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de los valores promedio de la altura de *Zea mays* L. 10 días después de la inoculación con bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno.

Tratamientos	Normalidad	
	Kolmogórov-Smirnov	
	Estadístico	P-valor
Testigo	0,23347	0,1686
Testigo químico	0,14255	0,8624
<i>Azospirillum</i> sp.36	0,18025	0,5445
<i>Burkholderia</i> sp.5	0,16676	0,6664
<i>Herbaspirillum</i> sp. 21	0,16838	0,6528
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6	0,16659	0,669
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22	0,14582	0,8469

Homogeneidad de varianzas			
	Estadístico de Levene	gl	P-valor
Se basa en la media	1,3288	6 56	0,2598

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Tratamientos	74,01	6	12,34	19,91	0,0001
Residuos	34,7	56	0,62		
Total	108,71	62			

Pruebas de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de los valores promedio de la altura de *Zea mays* L. 20 días después de la inoculación con bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno.

Tratamientos	Normalidad	
	Kolmogórov-Smirnov	
	Estadístico	P-valor
Testigo	0,1973	0,3975
Testigo químico	0,2179	0,2555
<i>Azospirillum</i> sp.36	0,199112	0,3828
<i>Burkholderia</i> sp.5	0,16776	0,6584
<i>Herbaspirillum</i> sp. 21	0,17813	0,5638
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6	0,23848	0,1475
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22	0,27931	0,04145

Homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl	P-valor
Se basa en la mediana	1,6794	6	0,1431
		56	

Kruskal-Wallis

	gl	chi-cuadrado	P-valor
Tratamientos	6	40,385	0,0001

Pruebas de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de los valores promedio de la altura de *Zea mays* L. 30 días después de la inoculación con bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno.

Normalidad

Tratamientos	Kolmogórov-Smirnov	
	Estadístico	P-valor
Testigo	0,1559	0,7626
Testigo químico	0,31058	0,01246
<i>Azospirillum</i> sp.36	0,19217	0,4688
<i>Burkholderia</i> sp.5	0,22318	0,2199
<i>Herbaspirillum</i> sp. 21	0,3254	0,00665
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6	0,2644	0,0694
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22	0,1983	0,4512

Homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl	P-valor
Se basa en la mediana	0,6772	6	0,6685
		56	

Kruskal-Wallis

	Gl	chi-cuadrado	P-valor
Tratamientos	6	55,212	0,0001

Pruebas de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de los valores promedio de la altura de *Zea mays* L. 40 días después de la inoculación con bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno.

Tratamientos	Normalidad	
	Kolmogórov-Smirnov	
	Estadístico	P-valor
Testigo	0,1873	0,4817
Testigo químico	0,28318	0,2199
<i>Azospirillum</i> sp.36	0,33618	0,04139
<i>Burkholderia</i> sp.5	0,24841	0,1125
<i>Herbaspirillum</i> sp. 21	0,3612	0,004139
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6	0,2086	0,3118
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22	0,25821	0,08515

Homogeneidad de varianzas			
	Estadístico de Levene	gl	P-valor
Se basa en la mediana	1,6542	6	0,1495
		56	

Kruskal-Wallis			
	gl	chi-cuadrado	P-valor
Tratamientos	6	58,169	0,0001

Pruebas de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de los valores promedio de peso fresco de *Zea mays* L. después de la inoculación con bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno.

Tratamientos	Normalidad	
	Kolmogórov-Smirnov	
	Estadístico	P-valor
Testigo	0,17962	0,5502
Testigo químico	0,16807	0,6555
<i>Azospirillum</i> sp.36	0,12423	0,955
<i>Burkholderia</i> sp.5	0,1524	0,791
<i>Herbaspirillum</i> sp. 21	0,16104	0,7186
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6	0,1667	0,6683
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22	0,1654	0,6797

Homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl	P-valor
Se basa en la media	1,4022	6	0,23
		56	

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Tratamientos	54,714	6	9,1190	57,828	0,0001
Residuos	8,831	56	0,1577		
Total		62			

Pruebas de normalidad, homogeneidad de varianza y análisis de varianza de los valores promedio de peso seco de *Zea mays L.* después de la inoculación con bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno.

Normalidad

Tratamientos	Kolmogórov-Smirnov	
	Estadístico	P-valor
Testigo	0,22015	0,2371
Testigo químico	0,13226	0,9214
<i>Azospirillum</i> sp.36	0,15074	0,6312
<i>Burkholderia</i> sp.5	0,15714	0,7524
<i>Herbaspirillum</i> sp. 21	0,15344	0,7834
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6	0,15526	0,7684
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22	0,15802	0,5642

Homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl	P-valor
Se basa en la media	2,053	6	0,07356
		56	

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Tratamientos	0,20278	6	0,033796	15,437	0,0001
Residuos	0,1226	56	0,002189		
Total		62			

ANEXO 8

Altura y peso de la biomasa aérea de plantas de Zea mays L.

Tratamiento	Altura(cm)/días											
	10			20			30			40		
Testigo (0)	12,30	11,20	11,00	34,0	34,0	33,0	39,00	38,00	37,00	43,00	41,00	41,00
Testigo (0)	11,80	11,60	11,20	33,6	33,4	33,2	37,00	36,00	36,00	39,00	38,00	38,00
Testigo (0)	11,40	11,10	11,00	35,3	35,1	35,0	40,00	39,00	38,00	44,00	42,00	42,00
Testigo químico (1)	13,00	12,50	11,10	37,0	36,0	36,0	43,00	43,00	41,00	47,00	46,00	45,00
Testigo químico (1)	12,20	11,60	10,00	35,0	34,0	33,0	39,00	39,00	38,00	44,00	44,00	43,00
Testigo químico (1)	11,90	11,50	11,30	37,0	36,0	35,0	39,00	39,00	37,00	44,00	43,00	42,00
<i>Azospirillum</i> sp.36 (a)	14,90	14,70	13,80	40,0	40,0	39,0	54,00	53,00	53,00	61,00	61,00	59,00
<i>Azospirillum</i> sp.36 (b)	14,50	14,20	14,10	38,0	38,0	37,0	52,00	51,00	51,00	61,00	60,00	59,00
<i>Azospirillum</i> sp.36 (c)	13,50	12,40	11,80	38,0	37,0	36,0	51,00	50,00	49,00	62,00	61,00	61,00
<i>Burkholderia</i> sp.5 (a)	15,80	15,50	14,50	47,0	46,0	45,0	57,00	57,00	56,00	64,00	64,00	63,00
<i>Burkholderia</i> sp.5 (b)	15,30	15,10	14,20	43,0	42,0	42,0	58,00	56,00	56,00	65,00	64,00	64,00
<i>Burkholderia</i> sp.5 (c)	13,80	13,60	13,50	41,0	40,0	39,0	55,00	54,00	53,00	63,00	63,00	62,00
<i>Herbaspirillum</i> sp. 21 (a)	13,70	12,90	12,60	39,0	38,0	37,0	49,00	48,00	47,00	59,00	57,00	57,00
<i>Herbaspirillum</i> sp. 21 (b)	14,80	14,60	13,50	41,0	41,0	40,0	50,00	49,00	49,00	60,00	59,00	59,00
<i>Herbaspirillum</i> sp.21 (c)	14,70	14,30	13,20	41,0	40,0	39,0	50,00	49,00	49,00	59,00	59,00	58,00
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6 (a)	14,20	13,00	12,80	40,0	39,0	39,0	58,00	58,00	57,00	69,00	69,00	68,00
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6 (b)	14,00	13,60	12,90	39,0	37,0	37,0	57,00	57,00	55,00	67,00	67,00	65,00
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6 (c)	13,40	12,70	12,10	35,0	35,0	34,0	55,00	54,00	54,00	65,00	64,00	64,00
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22 (a)	14,70	13,80	13,50	43,0	42,0	41,0	59,00	58,00	58,00	70,00	68,00	68,00
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22 (b)	13,90	13,30	13,00	37,0	36,0	35,0	55,00	54,00	54,00	65,00	64,00	64,00
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22 (c)	13,70	12,80	12,60	36,0	36,0	35,0	56,00	56,00	55,00	66,00	65,00	65,00

.....continuación

Tratamiento	Biomasa (g)/40 días					
	Fresca			Seca		
Testigo (0)	3,10	2,90	2,70	0,36	0,35	0,34
Testigo (0)	2,70	2,60	2,60	0,34	0,33	0,32
Testigo (0)	3,20	2,90	2,80	0,40	0,36	0,35
Testigo químico (1)	3,50	3,40	3,20	0,43	0,42	0,40
Testigo químico (1)	3,30	3,10	2,90	0,41	0,39	0,38
Testigo químico (1)	3,10	2,90	2,80	0,39	0,37	0,36
<i>Azospirillum</i> sp.36 (a)	5,16	4,81	4,52	0,54	0,35	0,30
<i>Azospirillum</i> sp.36 (b)	5,10	4,60	4,10	0,53	0,48	0,45
<i>Azospirillum</i> sp.36 (c)	4,90	4,40	3,80	0,52	0,47	0,43
<i>Burkholderia</i> sp.5 (a)	6,53	5,90	5,60	0,56	0,54	0,50
<i>Burkholderia</i> sp.5 (b)	5,90	5,20	4,80	0,54	0,51	0,49
<i>Burkholderia</i> sp.5 (c)	5,70	5,50	4,70	0,48	0,45	0,43
<i>Herbaspirillum</i> sp. 21 (a)	5,60	5,10	4,50	0,52	0,47	0,41
<i>Herbaspirillum</i> sp. 21 (b)	5,80	5,20	5,10	0,56	0,50	0,48
<i>Herbaspirillum</i> sp.21 (c)	5,60	5,30	4,80	0,51	0,48	0,43
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6 (a)	4,70	4,10	3,90	0,49	0,43	0,41
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6 (b)	4,60	4,00	3,50	0,46	0,40	0,35
<i>Gluconacetobacter</i> sp.6 (c)	4,30	4,10	3,70	0,43	0,41	0,37
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22 (a)	5,00	4,68	4,00	0,41	0,37	0,33
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22 (b)	4,90	4,60	4,10	0,38	0,36	0,29
<i>Gluconacetobacter</i> sp.22 (c)	4,80	4,40	3,90	0,37	0,33	0,28

ANEXO 9



LABORATORIO DE ENSAYOS
TECNICOS
"MICROSERVILAB"
LAMBAYEQUE – PERU



INFORME DE ENSAYO N° 671

I. DATOS DEL SOLICITANTE:

- Bach. Miriam Liliana Flores Diaz
- Bach. Ana Lucia Tacto Tomapasca

II. TITULO DE PROYECTO:

Bacterias fijadoras de nitrógeno en *Saccharum officinarum* L. "caña de azúcar" y su potencial como promotoras de crecimiento de *Zea mays* L. "maíz"

III. DATOS DE LA MUESTRA:

Nombre	: Burkholderia sp.
Código	: Burkholderia sp.5
Forma de presentación	: Bolsa hermética
Estado del envase	: Bueno
Naturaleza del envase	: Plástico
Procedencia	: Chiclayo-Lambayeque
Fecha de cosecha	: 02-12-2022
Llegada al laboratorio	: 27-01-2023
Fecha de análisis	: 27-01-2023

**IV. TIPO DE ANALISIS
PROXIMAL**

V. DOCUMENTO NORMATIVO

Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)

VI. RESULTADO DEL ANALISIS

1. Determinación de criterios proximales :

- | | | | | | |
|-------------|-----|---|------|---|-----------------------------|
| • Nitrogeno | (%) | : | 0.63 | % | Method AOAC 960.52 Kjeldahl |
|-------------|-----|---|------|---|-----------------------------|

LABOR. TECNICO DE ANALISIS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
Cajamarca - Peru
Ing. Fernando E. Chacabarro Capuray
Director General

ANEXO 10

**I. DATOS DEL SOLICITANTE:**

- Bach. Miriam Liliana Flores Diaz
- Bach. Ana Lucia Tocto Tomapasca

II. TITULO DE PROYECTO:

Bacterias fijadoras de nitrógeno en *Saccharum officinarum* L. "caña de azúcar" y su potencial como promotoras de crecimiento de *Zea mays* L. "maíz"

III. DATOS DE LA MUESTRA:

Nombre	: Tratamiento absoluto
Código	: Tratamiento absoluto
Forma de presentación	: Bolsa hermética
Estado del envase	: Bueno
Naturaleza del envase	: Plástico
Procedencia	: Chiclayo-Lambayeque
Fecha de cosecha	: 11-01-2023
Llegada al laboratorio	: 27-01-2023
Fecha de análisis	: 27-01-2023

IV. TIPO DE ANALISIS PROXIMAL**V. DOCUMENTO NORMATIVO**

Reglamento sobre vigilancia y control Sanitario de Alimentos y Bebidas (DS.007- 98-SA)

VI. RESULTADO DEL ANALISIS**1. Determinación de criterios proximales :**

- | | | |
|-----------------|----------|-----------------------------|
| • Nitrogeno (%) | : 0.70 % | Method AOAC 960.52 Kjeldahl |
|-----------------|----------|-----------------------------|

LABORATORIO DE ANALISIS
FACULTAD DE INGENIERIA
UNIVERSIDAD DE CHICLAYO
Ing. Fernando Chacón Capuñá
Director General