



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



**Efecto de Actinobacterias aisladas de**  
***Asparagus officinalis* L. en el desarrollo vegetativo**  
**de *Lycopersicon esculentum* Mill.**

TESIS

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

PRESENTADA POR:

Br. Ingri Greisy Cancino Delgado

**LAMBAYEQUE, PERÚ**

**2017**

**Efecto de Actinobacterias aisladas de *Asparagus officinalis* L. en el desarrollo vegetativo de *Lycopersicon esculentum* Mill.**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA  
MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA**

**APROBADA POR:**

MSc. Clara Cueva Castillo

\_\_\_\_\_

**PRESIDENTA**

Dr. Eduardo Tejada Sánchez

\_\_\_\_\_

**SECRETARIO**

Dra. Gianina Llontop Barandiarán

\_\_\_\_\_

**VOCAL**

Dra. Carmen Carreño Farfán

\_\_\_\_\_

**PATROCINADORA**

**LAMBAYEQUE, PERÚ**

**2017**

## *AGRADECIMIENTOS*

*Estas líneas servirán para expresar nuestro más grande y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda colaboraron en la elaboración del presente trabajo de investigación.*

*Un agradecimiento muy especial a nuestra asesora la Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán quien se comprometió con nosotros desde el inicio transmitiéndonos su conocimiento, sobre todo por su paciencia y dedicación por ser la gran persona y amiga, por forjarnos para dar por terminado nuestros objetivos.*

*Especial reconocimiento merece el grupo de amigos que iniciamos este proyecto por haberme brindado su apoyo incondicional.*

*A nuestra amiga Marleny del Socorro Mija Huaman que con sus consejos y apoyo colaboro en la presente tesis.*

## **DEDICATORIA**

*A Dios por haberme acompañado y guiado en todo este tiempo en la realización de la tesis.*

*A mis padres Leonel Cancino Sanchez y Monica Elizabeth Delgado Cigüeñas por haberme brindado la mejor educación y lecciones de la vida, impulsándome a ser mejor cada día los amo infinitamente.*

*A mis abuelos queridos Lorenzo Delgado Castro y Celestina Sigueñas Montaña por su apoyo moral y su cariño brindado constantemente.*

*A mis grandes amigos de la universidad que iniciamos este proyecto a mis amigos de mi código 2011-I son los mejores.*

***Ingri Greisy Cancino Delgado***

## Índice

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Antecedentes de la investigación .....	4
2.2 Base teórica.....	7
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	11
3.1 Materiales.....	11
3.1.1 Material biológico.....	11
3.1.2 Población y muestra .....	11
3.2 Métodos .....	11
3.2.1 Variable de la fase descriptiva.....	11
3.2.2 Variables de la fase experimental.....	11
3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis .....	12
3.2.4 Reactivación de cultivos de Actinobacterias.....	12
3.2.5 Primera fase: Cuantificación de nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos.....	16
3.2.6 Segunda fase: Efecto de Actinobacterias en el desarrollo de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.....	18
3.2.7 Análisis estadístico de los datos .....	27
IV RESULTADOS.....	28
4.1 Nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos.....	28
4.2 Efecto de 15 cultivos de Actinobacterias en la altura y longitud de raíces de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill .....	28
4.3 Cultivos de Actinobacterias seleccionadas.....	38
4.4 Efecto de Actinobacterias seleccionadas en el desarrollo vegetativo y reproductivo de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill .....	46
V. DISCUSIÓN .....	65
VI. CONCLUSIONES .....	68
VII. RECOMENDACIONES .....	69
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
ANEXOS .....	78

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b>	Análisis físico-químico de suelo agrícola experimental, 2017.....	19
<b>Tabla 2.</b>	Nitrógeno fijado como amonio, fósforo soluble e indoles producidos por Actinobacterias .....	29
<b>Tabla 3.</b>	Índices de efectividad en la altura de plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 15, 30, 45 y 60 días después de la inoculación de Actinobacterias.....	32
<b>Tabla 4.</b>	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 15, 30, 45 y 60 días después de la inoculación de Actinobacterias.....	33
<b>Tabla 5.</b>	Índices de efectividad (%) y prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la longitud de raíces de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias.....	44
<b>Tabla 6.</b>	Índices de efectividad (%) en la altura de la planta y longitud de raíces de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. por Actinobacterias seleccionadas ...	45
<b>Tabla 7.</b>	Índices de efectividad (%) en la emergencia y altura de plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. por Actinobacterias seleccionadas .....	48
<b>Tabla 8.</b>	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 15 y 30 días después de la inoculación de Actinobacterias .....	49
<b>Tabla 9.</b>	Índices de efectividad en la altura de plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. por Actinobacterias inoculadas a la siembra y transplate.....	52
<b>Tabla 10.</b>	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 45, 60, 75 y 90 días después de la inoculación de Actinobacterias a la siembra y transplate.....	53
<b>Tabla 11.</b>	Índices de efectividad (%) al 50% de la floración en <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., por Actinobacterias inoculadas a la siembra y transplate.....	60
<b>Tabla 12.</b>	Índices de efectividad (%) al 50% de la fructificación en <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., por Actinobacterias inoculadas a la siembra y transplate .....	61

<b>Tabla 13.</b>	Número y peso de frutos de plantas <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., con Actinobacterias inoculadas a la siembra y transplate.....	63
<b>Tabla 14.</b>	Índices de efectividad (%) número y peso de frutos de en <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., por Actinobacterias inoculadas a la siembra y transplate.....	64
<b>Tabla 15.</b>	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey del número y peso de frutos de en <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., con Actinobacterias seleccionadas.....	64

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b>	Cultivos de Actinobacterias en agar avena.....	13
<b>Figura 2.</b>	Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de 15 cultivos de Actinobacterias en la altura de <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.....	14
<b>Figura 3.</b>	Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de cinco cultivos de y dos testigos en el desarrollo de <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. “tomate”.....	15
<b>Figura 4.</b>	Suelo experimental contenido en macetas de arcilla.....	19
<b>Figura 5.</b>	Semillas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. germinadas.....	21
<b>Figura 6.</b>	Inóculo de Actinobacterias en solución salina esterilizada.....	21
<b>Figura 7.</b>	Semillas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. inoculadas con Actinobacterias .....	22
<b>Figura 8.</b>	Medición de la altura de planta de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill....	22
<b>Figura 9.</b>	Suelo experimental contenido en vasos de tecnopor.....	24
<b>Figura 10.</b>	Plantulas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. cultivadas en condiciones de invernadero.....	24
<b>Figura 11.</b>	Inmersión de raíces de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. en inóculo de Actinobacteria.....	25
<b>Figura 12.</b>	Plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 15 días después de la inoculación de Actinobacterias.....	30
<b>Figura 13.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 15 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017 .....	31
<b>Figura 14.</b>	Plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 15 días después de la inoculación de Actinobacterias, a) <i>Micromonospora</i> sp.45.1, b) <i>Streptomyces</i> sp.30.1, c) <i>Streptomyces</i> sp.39.2.....	36



<b>Figura 15.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 30 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	37
<b>Figura 16.</b>	Plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 45 días después de la inoculación de Actinobacterias, a) <i>Nocardia</i> sp.4.3, b) <i>Micromonospora</i> sp.15.2, c) <i>Streptomyces</i> sp.50.1.....	39
<b>Figura 17.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 45 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	40
<b>Figura 18.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	41
<b>Figura 19.</b>	Raíces de plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, a) Testigo absoluto, b) <i>Nocardia</i> sp.49.1, c) <i>Streptomyces</i> sp.50.1.....	42
<b>Figura 20.</b>	Longitud (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	43
<b>Figura 21.</b>	Cultivos de Actinobacterias seleccionados.....	45
<b>Figura 22.</b>	Emergencia de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 7 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017 .....	47
<b>Figura 23.</b>	Emergencia de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 7 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.....	47
<b>Figura 24.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 15 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.....	48
<b>Figura 25.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 15 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.....	49
<b>Figura 26.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 30 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.....	50
<b>Figura 27.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 30 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.....	50

<b>Figura 28.</b>	Plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 45 días después de la inoculación de Actinobacterias, seleccionadas, 2017, a) Testigo absoluto, b) Testigo químico, c) <i>Streptomyces</i> sp.30.1.....	51
<b>Figura 29.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 45 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.....	51
<b>Figura 30.</b>	Plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, seleccionadas, 2017, a) Testigo químico, b) Testigo absoluto, c) <i>Streptomyces</i> sp.39.2.....	55
<b>Figura 31.</b>	Plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, seleccionadas, 2017, a) Testigo químico, b) Testigo absoluto, c) <i>Streptomyces</i> sp.11.2.....	55
<b>Figura 32.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.....	56
<b>Figura 33.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 75 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.....	56
<b>Figura 34.</b>	Plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 90 días después de la inoculación de Actinobacterias, seleccionadas, 2017, a) Testigo químico, b) Testigo absoluto, c) <i>Streptomyces</i> sp.30.1.....	57
<b>Figura 35.</b>	Plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. 90 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017, a) Testigo químico, b) Testigo absoluto, c) <i>Streptomyces</i> sp.11.2.....	57
<b>Figura 36.</b>	Altura (cm) de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., 90 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.....	58
<b>Figura 37.</b>	Flores de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. ....	58
<b>Figura 38.</b>	Plantas de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. en floración, 2017.....	59
<b>Figura 39.</b>	Días al 50% de la floración en <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., inoculado con Actinobacterias a la siembra y al transplante.....	59
<b>Figura 40.</b>	Fructificación de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.....	60

**Figura 41.** Dias al 50% de la fructificación en *Lycopersicon esculentum* Mill., 61  
inoculado con Actinobacterias a la siembra y al transplante.....

**Figura 42.** Frutos comerciales de *Lycopersicon esculentum* Mill..... 63

## RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de investigar la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato y producción de indoles por Actinobacterias aisladas de *Asparagus officinalis* L. y determinar el efecto de su inoculación en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill. "tomate". Mediante técnicas colorimétricas se cuantificó el nitrógeno fijado como amonio, fósforo soluble producto de la solubilización de fosfato tricálcico e indoles producidos *in vitro* por las Actinobacterias. En el invernadero se realizaron dos ensayos, el primero con 15 cultivos de Actinobacterias en inoculación simple a las semillas antes de la siembra y el segundo con cinco cultivos de Actinobacterias con inoculación doble en las semillas y las raíces al momento del trasplante. El diseño experimental fue completamente aleatorio incluyendo a los testigos químico (NPK) y absoluto. Las Actinobacterias fijaron nitrógeno (7,744 a 31,513ppm de amonio), solubilizaron fosfato tricálcico (0,275 a 4,725ppm de fósforo soluble) y produjeron indoles (30,022 a 58,911ppm). Estas Actinobacterias incrementaron el desarrollo de las plantas de tomate, destacando *Streptomyces* spp.11.2 y 50.1 con índices de efectividad de 1,73 a 56,05% en la altura, 20 a 23% en el número de frutos y 27,37 a 34,02% en el peso de frutos. Se demostró el incremento en el desarrollo vegetativo y reproductivo del tomate por las Actinobacterias.

**Palabras clave:** Actinobacterias, *Lycopersicon esculentum*, desarrollo.

## ABSTRACT

The present investigation was carried out with the objective of investigating nitrogen fixation, phosphate solubilization and production of indoles by Actinobacteria isolated from *Asparagus officinalis* L. and to determine the effect of their inoculation on the development of *Lycopersicon esculentum* Mill. "Tomato". By means of colorimetric techniques, the nitrogen fixed as ammonium, soluble phosphorus product of the solubilization of tricalcium phosphate and indoles produced in vitro by Actinobacteria were quantified. In the greenhouse two trials were carried out, the first with 15 cultures of Actinobacteria in simple inoculation to the seeds before sowing and the second with five cultures of Actinobacteria with double inoculation in the seeds and roots at the time of transplant. The experimental design was completely randomized including the chemical (NPK) and absolute controls. Actinobacteria fixed nitrogen (7,744 to 31,513 ppm of ammonium), solubilized tricalcium phosphate (0.275 to 4.725 ppm of soluble phosphorus) and produced indoles (30,022 to 58,911 ppm). These Actinobacteria increased the development of tomato plants, highlighting *Streptomyces* spp. 11.2 and 50.1 with effectiveness indexes of 1.73 to 56.05% in height, 20 to 23% in the number of fruits and 27.37 to 34.02% in the weight of fruits. The increase in the vegetative and reproductive development of the tomato was demonstrated by Actinobacteria.

**Key words:** Actinobacteria, *Lycopersicon esculentum*, development.

## I. INTRODUCCIÓN

La necesidad de suplir con alimentos a los miles de millones de personas que habitan el planeta, ha llevado a la utilización de materiales de alta eficiencia en la agricultura, variedades vegetales resistentes a plagas y enfermedades, con ciclos de producción más cortos y agroquímicos, que brindan nutrientes y protección frente a plagas y enfermedades (Camelo, Vera y Bonilla, 2011). En este contexto, los fertilizantes químicos incrementan la productividad y rentabilidad de los cultivos agrícolas como *Lycopersicon esculentum* Mill. “tomate”; no obstante, cada año aumenta la cantidad de fertilizantes por aplicar, debido a la menor adsorción en el suelo y absorción por la planta (Nicolalde y Quintana, 2010) y bajo un manejo inadecuado los fertilizantes químicos contaminan el ambiente (Camelo et al., 2011; Aguado, 2012).

En el desarrollo de alternativas para disminuir el uso de fertilizantes químicos se realizan investigaciones con las rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR). Estas bacterias benefician a los cultivos agrícolas a través de dos mecanismos. El primero consiste en la producción de metabolitos secundarios capaces de promover respuestas fisiológicas en las células vegetales. El segundo mecanismo se encuentra en la intervención directa de las bacterias en los ciclos biogeoquímicos, con lo que hacen disponibles compuestos orgánicos e inorgánicos, que son aprovechados por las plantas (Camelo et al., 2011).

Entre las PGPR se encuentran especies de Actinobacterias, reconocidas por su versatilidad (Da Silva, Fermino & da Silva, 2008) y formación de esporas que les permiten sobrevivir en condiciones adversas (Franco, 2008). Estas bacterias

tienen potencial como PGPR debido a la producción de reguladores de crecimiento (Barreto, da Silva, Soares y de Souza, 2008; Castellanos, Cubillos y Argüello, 2009; López, 2013) fijación de nitrógeno (Rico, 2009; Otero, 2011) solubilización de fosfatos (Márquez, Martínez y Franco, 2002; Prieto, Prada, Cuervo y Franco, 2015) y control biológico de fitopatógenos (Anitha & Rabeeth, 2009; Suwan, To-anun, Soyton & Nalumpang, 2012), encontrándose reportes científicos de incremento en la germinación (Srividya, Adarshana, Deepika, Kajingailu, & Nilanjan, 2012; Cabrera y Paredes, 2013), emergencia (Aguilar y Deza, 2014), desarrollo vegetativo (Julón, 2014) y rendimiento de cultivos como *Solanum tuberosum* L. “papa” (Rico, 2009), *Zea mays* L. “maíz” (Paredes, 2014; Rodríguez, 2013), *Vicia faba* L. “haba” (Hewedy, 2011), *Capsicum* sp. “chili” (Suwan et al., 2012), *Trifolium repens* L. trébol blanco (Gómez, Bello, Prada, Rodríguez, Gómez y Franco, 2011), y *Phaseolus vulgaris* L. “frejol” (López, 2013), por lo que constituyen una alternativa para la obtención de biofertilizantes.

La investigación de las PGPR requiere en un inicio el aislamiento y caracterización en condiciones de laboratorio, para después determinar el efecto de su inoculación en los cultivos agrícolas tanto en condiciones de invernadero como de campo (Carreño, 2009). En el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas se han aislado Actinobacterias en la rizósfera de plantas de *Asparagus officinalis* L. “espárrago” y se ha demostrado en laboratorio que tienen potencial como promotoras de crecimiento en estas plantas (Sánchez, 2017); sin embargo, no se ha investigado el efecto de estas bacterias en el desarrollo vegetativo de otros cultivos agrícolas como el tomate en condiciones de invernadero (Rico, 2009), requisito indispensable para su aplicación en condiciones de campo.

La presente investigación demostrará la efectividad de las Actinobacterias y la posibilidad de utilizarlas como biofertilizantes, asegurando la rentabilidad del cultivo y reducción de la fertilización química, beneficiando a los productores, consumidores y medio ambiente. Por lo expuesto, se planteó el siguiente problema ¿Cuál es el efecto de Actinobacterias aisladas de la rizósfera de espárrago en el desarrollo de tomate en condiciones de invernadero? El objetivo

general fue: Determinar el efecto de 15 cultivos de Actinobacterias en el desarrollo de tomate, en condiciones de invernadero.

Los objetivos específicos fueron: Cuantificar el nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos *in vitro* por 15 cultivos de Actinobacterias, determinar el efecto de 15 cultivos de Actinobacterias en la altura y longitud de raíces de plantas de tomate durante 60 días, seleccionar los cinco cultivos de Actinobacterias con los que alcanzaron los mayores valores en la altura y determinar el efecto de las Actinobacterias seleccionadas en el desarrollo vegetativo y reproductivo de plantas de tomate en condiciones de invernadero. La hipótesis planteada fue: Las Actinobacterias fijadoras de nitrógeno, productoras de indoles y solubilizadoras de fosfatos incrementan el desarrollo vegetativo y reproductivo del cultivo de tomate en condiciones de invernadero.



## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes de la investigación

En suelos agrícolas se aislaron actinomicetos con el objetivo de caracterizarlos y determinar su efecto en el desarrollo de plantas de *Trifolium repens* L. “trébol blanco”. En condiciones de laboratorio se investigó la solubilización de fosfatos, fijación de nitrógeno, producción de ácido indolacético, sideróforos y quitinasas, así como también se realizó la identificación molecular de los actinomicetos. Aquellos que alcanzaron los mayores valores en las características investigadas se seleccionaron para la prueba de invernadero. Las semillas de trébol blanco previamente desinfectadas e hidratadas se sembraron en suelo-abono y después del trasplante a macetas, las bacterias se aplicaron al suelo, distribuyéndose todos los tratamientos aleatoriamente en el invernadero. Después de 6 meses, se determinó que los actinomicetos incrementaron la longitud y el peso de las partes aérea y raíz de las plantas, destacando *Streptomyces* sp. MCR26. Se concluyó que esta bacteria tiene potencial para incrementar el desarrollo vegetativo de trébol blanco (Franco, 2008).

En la rizósfera de plantaciones de *Solanum tuberosum* L. se aislaron 17 cultivos de actinomicetos identificados como *Streptomyces* spp., con el objetivo de investigar su capacidad promotora de crecimiento vegetal. El ensayo se realizó en invernadero, teniendo como variables el tipo de sustrato (con y sin esterilización) tanto en plántula como en semilla vegetativa de papa variedad Única. Las bacterias se cultivaron en caldo nutritivo, a 28°C, 150 rpm ( $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>). En un primer experimento, después del trasplante de plántulas *in vitro*, las bacterias se inocularon en la rizósfera. En un segundo experimento además de las plántulas *in vitro*, semillas de tubérculo fueron embebidas con 30 mL de las bacterias para luego ser trasplantadas a macetas. Las plantas inoculadas con el 47% de los estreptomicetos mostraron diferencias significativas respecto al

testigo. El número de tubérculos fue de 3,75 a 8,75 y el peso seco de 4,8 a 9,2 g en los tratamientos con actinomicetos, en comparación con 2,25 y 2,0 g en el testigo. Se demostró la promoción del crecimiento y rendimiento de papa por los actinomicetos investigados (Rico, 2009).

La capacidad de los actinomicetos para mineralizar fósforo orgánico y su interacción rizosférica con microrizas se investigó en *Trifolium repens* L. “trébol blanco”. Las cepas de *Streptomyces* sp. MCR9, *Thermobifida* sp. MCR24 y *Streptomyces* sp. MCR26 previamente aisladas en suelo rizosférico de trébol blanco se cultivaron en caldo Pikovskaya y cada 24 horas, durante 8 días se cuantificó el fosfato orgánico mineralizado, mediante el sustrato cromógeno p-nitrofenil fosfato. En invernadero las semillas de trébol se desinfectaron, se hidrataron y se inocularon en suelo-abono. Al momento del trasplante se inocularon las bacterias en la rizósfera y después de 6 meses se cuantificaron la biomasa foliar y radicular de las plantas. Las cepas de *Streptomyces* spp. mineralizaron fosfatos, no diferenciándose significativamente entre ellas, pero sí de *Thermobifida* sp. En invernadero se observó incremento significativo en la producción de biomasa foliar (189 a 252 mg) y radicular (17 a 21 mg) en las plantas con actinomicetos, en comparación con el testigo (agua) con 96 y 22 mg respectivamente. Se demostró el incremento en la producción de biomasa de trébol blanco por efecto de los actinomicetos (Gómez et al., 2011).

El efecto de la aplicación de *Streptomyces chibaensis* y dos biofertilizantes se investigó en el crecimiento, rendimiento y valor nutricional de *Vicia faba* “haba”. En un primer ensayo, los biofertilizantes, Biogen (B) y Potassiomage (PG) y *S. chibaensis* se aplicaron en las semillas en tres dosis diferentes cada una. Después de 60 días se determinaron el peso de la biomasa fresca y seca, número de flores y número de vainas por planta. A la cosecha se determinaron el número de vainas, longitud, peso fresco y seco de vainas y peso seco de semillas. En el segundo ensayo las mejores dosis de cada tratamiento B: 0,32 g y PG: 0,16 g se mezclaron y se coinocularon con  $10^{-4}$  *S. chibaensis*. Las plantas inoculadas con *S. chibaensis* alcanzaron los mayores valores en los parámetros investigados, incluyendo el rendimiento (22,96 g), en comparación con el control (9,44 g); no

obstante, en la coinoculación de este actinomiceto con PG se alcanzaron 9,55 g en el peso de semillas en comparación con 7,83 g (*S. chibaensis*), 9,47 g (B) y 4,36 g con el control. Se demostró que la aplicación de *S. chibaensis* junto a los inoculantes comerciales incrementó el rendimiento de *V. faba* (Hewedy, 2011).

En el suelo de un jardín botánico se aislaron e identificaron 24 actinomicetos fijadores de nitrógeno, cuyo efecto se investigó en el crecimiento *in vitro* de semillas de *Lactuca sativa* L. “lechuga”. El inóculo se obtuvo en tubos con medio Ashby sin nitrógeno semisólido, en los que los actinomicetos se desarrollaron individualmente y sobre cada uno de ellos se depositó una semilla de lechuga germinada, con una radícula de 5mm, de longitud. Transcurridos 5 días, la longitud de las plantas desarrolladas con actinomicetos fue de 4,1–7,0 cm en comparación con 3,2 cm del control, registrándose incrementos de 0,87–3,77 %. Los mayores valores se alcanzaron con *Streptomyces* spp. concluyéndose que estos actinomicetos fijadores de nitrógeno presentan potencial como promotores de crecimiento en lechuga (Salazar y Ordóñez, 2013).

Microorganismos del género *Streptomyces* se investigaron, respecto a su capacidad para producir auxinas y solubilizar fosfatos, con el objetivo de seleccionarlos y determinar su efecto en el crecimiento de frejol. Las auxinas se investigaron con el reactivo de Salkowsky y la solubilización de fosfatos con el agar Pikovskaya con fosfato tricálcico. En invernadero, los cultivos de bacterias productoras de auxinas y también solubilizadoras de fosfato se inocularon independientemente en las semillas y en la rizósfera, 2 semanas después de la siembra. El actinomiceto fr, productor de auxinas incrementó la altura (45,5cm), biomasa de la parte aérea (1,53 g) y radicular (1,53 g) de la planta de frejol, en comparación con el testigo (43,70 cm; 1,11 g y 0,15 g, respectivamente). El actinomiceto CF solubilizador de fosfatos incrementó la altura (42,10 cm), biomasa de la parte aérea (0,92 g) y radicular (0,35 g) de las plantas en comparación con el testigo (36,5 cm; 0,59 g y 0,20 g, respectivamente). Se demostró el potencial de los actinomicetos productores de auxinas y solubilizadores de fosfatos para incrementar el crecimiento de frejol (López, 2013).

En la investigación de alternativas para disminuir el uso de fertilizantes químicos se realizó un ensayo en invernadero, para determinar el efecto de actinomicetos en el desarrollo vegetativo de *Zea mays* L. “maíz”. Las bacterias se cultivaron en agar nutritivo, a 30°C, por 48 horas y se inocularon ( $9,0 \times 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$ ) en las semillas y en la rizósfera de plantas de 7 días ( $4 \text{ mL plantula}^{-1}$ ) de maíz amarillo híbrido simple. A los 25, 50 y 75 días se midió la altura de las plantas y a los 75 días se cuantificó el peso de la biomasa. Los actinomicetos nativos incrementaron el desarrollo del maíz. El efecto fue mayor con la inoculación de las bacterias en las semillas, alcanzando índices de efectividad máximos de 29,62% en la altura; 53,60% en la biomasa aérea y 9,09% en la biomasa radicular. Se demostró el potencial de los actinomicetos para incrementar el desarrollo de maíz (Julón, 2014).

## **2.2 Base teórica**

En los últimos años se busca desarrollar alternativas para disminuir el efecto residual nocivo de los agroquímicos, restablecer el equilibrio biológico y la fertilidad del suelo. En este contexto, la agricultura ecológica incluye el uso de biofertilizantes: una mezcla de microorganismos benéficos que al ser aplicados restauran nutricional y biológicamente los suelos degradados (Otero, 2011). Los biofertilizantes, bioinoculantes, inoculantes microbianos o inoculantes del suelo son productos agrotecnológicos que contienen microorganismos (bacterias, hongos, solos o combinados), vivos o latentes y que son aplicados a los cultivos agrícolas para estimular su crecimiento y productividad. Se diferencian de los abonos orgánicos como el estiércol, composta y residuos de cosecha porque éstos también tienen microorganismos vivos, pero no cultivados de manera controlada y axénica para la formulación del producto y por lo tanto la composición exacta de los microorganismos es desconocida y variable (Aguado, 2012).

El ciclo de desarrollo de una planta es el conjunto de fases que va desde la germinación de la semilla hasta la floración y germinación del fruto. Este ciclo comprende dos etapas bien definidas: desarrollo vegetativo y desarrollo reproductivo (Fassio, Carsiquiry, Tojo, y Romero, 1998). Desarrollo vegetativo es el crecimiento ordenado de las plantas, con la consiguiente diferenciación de

tejidos y órganos. Comprende dos procesos: el crecimiento, que corresponde a los cambios de tamaño y la diferenciación que corresponde a los cambios estructurales y proliferativos (Fuentes, 2001). El crecimiento se refiere al aumento de algún órgano, órganos específicos o a las partes consideradas en su conjunto y está relacionado con la longitud, altura, diámetro y peso de la biomasa, todos en función del tiempo (Soplin, Rengifo y Chumbe, 1993).

Kloepper & Schroth (1978), mencionados por Bhattacharyya y Jha (2012), propusieron el término rizobacterias para las bacterias del suelo que competitivamente colonizaban las raíces, estimulaban el crecimiento de las plantas y a la vez reducían la incidencia de las enfermedades. En 1981, estos mismos investigadores denominaron a estas bacterias promotoras de crecimiento en plantas (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR). En la actualidad, este concepto se usa para las bacterias que cumplen con dos de los tres criterios establecidos, como son colonización agresiva, estimulación del crecimiento vegetal y biocontrol.

Las PGPR benefician a los cultivos agrícolas a través de mecanismos directos e indirectos. Los mecanismos directos incluyen la síntesis de reguladores del crecimiento (auxinas, giberelinas, citoquininas), solubilización de fosfatos minerales, fijación de nitrógeno atmosférico, producción de sideróforos y estimulación del sistema de absorción de iones como los nitratos. Entre los mecanismos indirectos o de biocontrol se encuentran la competencia por un nicho ecológico o por nutrientes, la interacción directa con los patógenos (parasitismo y lisis enzimática), antibiosis, producción de sideróforos e inducción de resistencia sistémica en las plantas (Delgado, Cupull, Pérez, Sánchez y Vilchez, 2003, Hernández, Heydrid, Velásquez y Hernández, 2006; Bhattacharyya & Jha, 2012).

Ensayos realizados con las PGPR en diferentes suelos, regiones climáticas y cultivos agrícolas, demostraron 5 a 7 % de incremento en el rendimiento en maíz (Nezarat & Gholami, 2009), tomate (Mena, Cruz, Paredes, Gómez & Portugal, 2009), ají (Suwan et al., 2012), papa (Stechmann, 2011), así como disminución de 25 a 50 % de la dosis del fertilizante químico (Balemi, Pal & Saxena, 2007; Lozada

y Rivas, 2010; Sarajuohi, Ardakani, Nurmohammadi, Kashani, Rejali & Mafakheri, 2012) y hasta 36 % de aumento en la rentabilidad (García, Muñoz, Carreño y Mendoza, 2012); sin embargo, también se han reportado resultados, en los que no se obtuvo la respuesta positiva esperada, porque los microorganismos no se adaptaron a las condiciones del suelo, muy diferentes a los de su procedencia o no compitieron exactamente con la biota nativa (González, Martínez, Corrales, Pérez, Gandarilla, Alonso, Curbelo y Méndez, 2003; Santillana, 2006; Carreño, 2009).

Los actinomicetos son un grupo heterogéneo de bacterias Gram positivas, caracterizadas por su capacidad de formar filamentos ramificados y por presentar un alto contenido de guanina y citosina en su ADN (51 a 78 % G + C). Se pueden encontrar en animales y en el suelo, son heterótrofos, pudiendo utilizar fuentes de carbono simples y complejas. La mayoría son mesófilos (25 a 30°C) y aerobios y el rango de pH óptimo en el suelo es de 6,5 a 8,0 (Rico, 2009). Los actinomicetos son abundantes en los suelos, pero también se encuentran en los ambientes acuáticos, dulces y marinos (Leiva, Yañez, Zaror, Rodríguez y García, 2004; León, Liza, Soto, Cuadra, Patiño y Zerpa, 2007). Presentan un olor típico a suelo húmedo (geosmina) y su actividad metabólica es muy alta, produciendo terpenoides, pigmentos y enzimas extracelulares con los que degradan la materia orgánica (Franco, 2009). Los géneros más frecuentemente identificados en el suelo son *Streptomyces*, *Nocardia* y *Micromonospora* (Rico, 2009).

El ciclo de vida del género *Streptomyces* el más frecuentemente aislado, se caracteriza por un proceso de diferenciación morfológica y fisiológica. La morfológica comienza con la germinación de las esporas originando tubos germinativos que se ramifican hasta constituir una red de hifas multigenómicas que se adhieren al sustrato y constituyen el micelio sustrato. Conforme desaparecen los nutrientes y aparecen los componentes de reserva (lipidos, polifosfatos) y metabolitos secundarios, el micelio sustrato inicia un crecimiento reproductivo: micelio aéreo que se alza en el aire y facilita la dispersión. Este micelio se desarrolla a expensas de la degradación de los componentes del micelio sustrato y sus hifas altamente hidrofóbicas se alargan, se curvan y los

filamentos se tabican de manera múltiple. Cada uno de los compartimientos monogenómicos formados dará lugar a las esporas o conidiosporas, capaces de iniciar un nuevo ciclo biológico (Moya, 2011).

El aislamiento e identificación de actinomicetos se ha reportado en tomate (Cabrera y Paredes, 2013; Núñez y Vásquez, 2013), papa (Stechmann, 2011), maíz (Arrunátegui, 2015), *Jatropha curcas* L. “piñon” (Gómez y Yarlaqué, 2013) e incluso malezas (Aldana y Sandoval, 2013; Infante y Zurita, 2013).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Materiales**

##### **3.1.1 Material biológico**

El material biológico estuvo constituido por semillas de tomate y 15 cultivos de Actinobacterias aisladas de suelo rizosférico y raíces de espárrago durante febrero a marzo de 2016, caracterizadas *in vitro* como rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas PGPR (Sánchez, 2017) y proporcionadas por el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencia Biológicas en la Universidad Pedro Ruiz Gallo.

##### **3.1.2 Población y muestra**

Población universal: Actinobacterias

Población muestral: Actinobacterias aisladas de suelo rizosférico y raíces de espárrago en Trujillo, durante febrero a marzo de 2016.

Unidad muestral: 15 cultivos de Actinobacterias: *Streptomyces* spp. 2, 4, 6, 8, 9, 10, 15, 17, 20; *Nocardia* spp. 4, 7, 20 y *Micromonospora* spp. 4,5 y 6.

#### **3.2 Métodos**

##### **3.2.1 Variable de la fase descriptiva**

Variable cuantitativa: Potencial como promotoras del crecimiento en plantas (nitrógeno fijado, fosfato solubilizado, indoles producidos).

##### **3.2.2 Variables de la fase experimental**

Variable independiente: Cultivos (15) de Actinobacterias.

Variable dependiente: Desarrollo vegetativo (altura aérea y radicular).

Desarrollo reproductivo (Días de floración, días a la fructificación, rendimiento).



### **3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis**

El trabajo de investigación se realizó en dos fases: En la primera fase descriptiva, con el diseño de “Sólo Después” (Vásquez, Díaz, Vásquez y Vásquez, 2012) se cuantificó el nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos por 15 cultivos de Actinobacterias (Figura 1). En la segunda fase explicativa, se realizaron dos ensayos en condiciones de invernadero, el primero para determinar el efecto de los 15 cultivos de Actinobacterias investigados en la altura de plantas de tomate durante 60 días y seleccionar los cinco cultivos bacterianos con los que se alcanzaron los mayores valores. En el segundo ensayo se determinó el efecto de las Actinobacterias seleccionadas en el desarrollo vegetativo y reproductivo de las plantas de tomate durante 90 días.

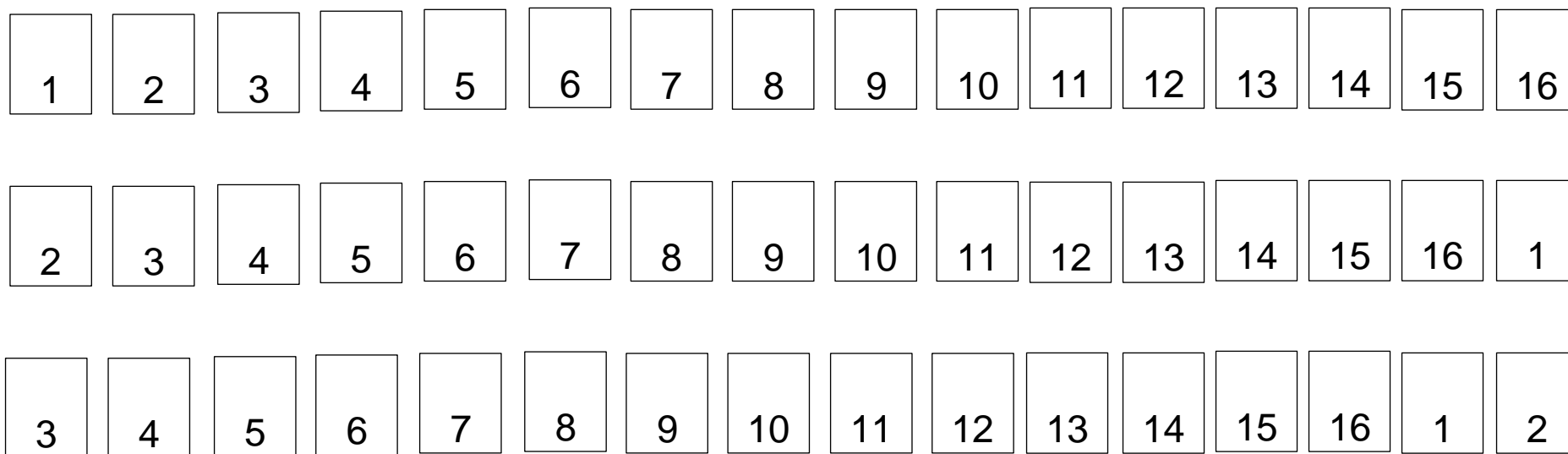
En la fase explicativa se utilizó, el diseño experimental completamente aleatorio, DCA (Hernández, Fernández y Baptista, 2014) con 16 tratamientos en el primer ensayo (15 cultivos de Actinobacterias y un testigo: con agua destilada) y siete tratamientos en el segundo ensayo (cinco cultivos de Actinobacterias y dos testigos: absoluto con agua destilada y químico con fertilizante: 180N:100P:120K. A cada tratamiento le correspondieron tres repeticiones, totalizando 48 y 21 unidades experimentales, respectivamente (Figuras 2, 3).

### **3.2.4 Reactivación de cultivos de Actinobacterias**

Las Actinobacterias fueron cultivadas en caldo avena a 30°C, en agitador a 150 rpm, durante 72 horas. A continuación, se sembraron mediante la técnica de estría en agar avena, se seleccionaron cuatro colonias características y se cultivaron en agar avena, durante 72 horas, constituyendo las bacterias reactivadas o cultivos de trabajo.



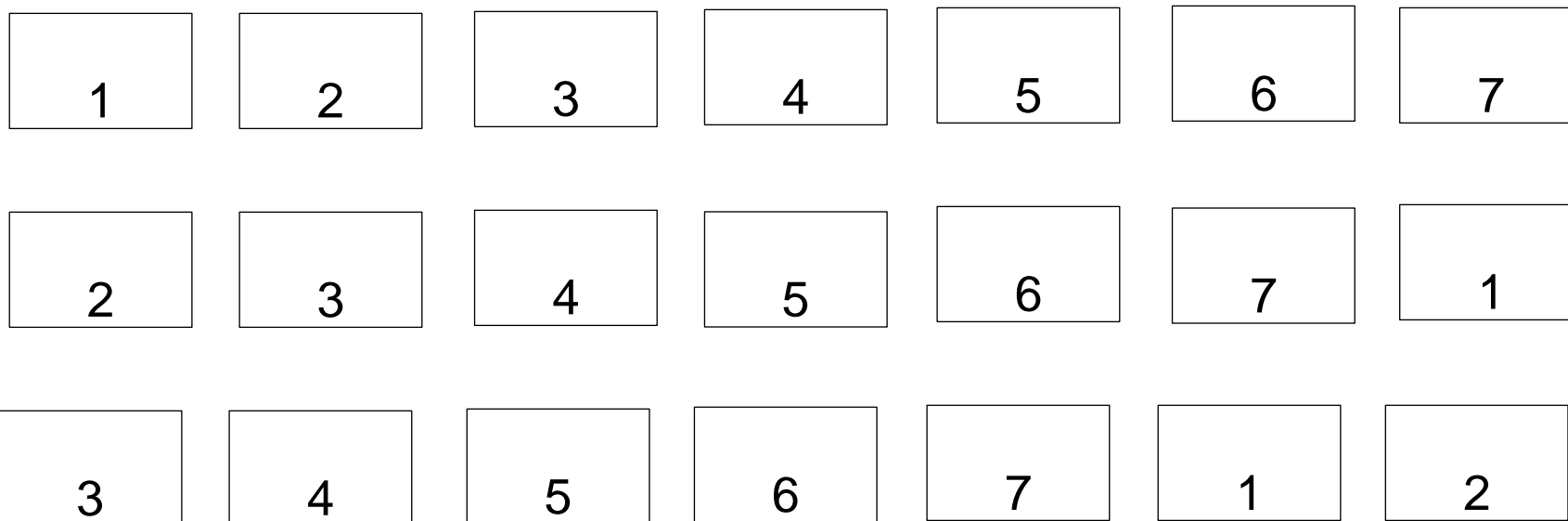
**Figura 1.** Cultivos de Actinobacterias en agar avena.



T1: Testigo absoluto

T2 a T16: Actinoacterias

**Figura 2.** Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de 15 cultivos de Actinobacterias en la altura de *Lycopersicon esculentum* Mill.



T1: Testigo absoluto

T2: Testigo químico

T3 a T7: Actinoacterias

**Figura 3.** Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de cinco cultivos de Actinobacterias y dos testigos en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill."tomate"

### **3.2.5 Primera fase: Cuantificación de nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos**

Con las Actinobacterias se cuantificó el amonio, producto de la fijación de nitrógeno, el fósforo soluble producto de la solubilización de fosfatos y los indoles producidos. Para la obtención del inóculo, las Actinobacterias se cultivaron en 5 mL de caldo nutritivo a 30°C, durante 72 horas (Córdova, 2016). Posteriormente, el caldo se centrifugó (3500rpm) durante 5 minutos, el sobrenadante se eliminó, el sedimento se lavó con solución salina esterilizada (NaCl 0,85% p/v) y su concentración se estandarizó a  $10^8$  cel mL<sup>-1</sup> por turbidimetría (Rodríguez, 2013) y con el espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 540 nm: absorbancia = 0,20, equivalente a  $10^8$  cel mL<sup>-1</sup>.

#### **a. Cuantificación de nitrógeno fijado *in vitro***

La cuantificación del nitrógeno fijado *in vitro* por las bacterias investigadas se realizó con el método colorimétrico: Técnica de Berthelot o fenol hipoclorito (Cadena y Martínez, 2011). El inóculo (5%:0,15mL) de cada cultivo bacteriano fue sembrado por triplicado en tubos de 15x150mL conteniendo 3 mL de caldo extracto de suelo 10% (Anexo 1) y se incubaron a 30°C, por 192 horas, con agitación constante (150 rpm). A continuación, se agregaron 9 mL de KCl 2M, se agitaron a 150 rpm durante 1 hora y se dejaron en reposo 1 hora adicional, para después tomar 10 mL de sobrenadante y centrifugarlos (3000 rpm) durante 5 minutos.

Los sobrenadantes se vertieron en tubos de dilución y se añadieron 0,4 mL de solución alcohólica de fenol al 10%; 0,4 mL de nitroprusiato de sodio al 0,5% y 1mL de solución oxidante. Los tubos se agitaron manualmente por 2 minutos y se dejaron en reposo durante 1 hora adicional. La reacción se consideró positiva a la fijación de nitrógeno por la aparición de una coloración azul, leyéndose la absorbancia en espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 632,9nm. Las concentraciones de amonio se calcularon con la ecuación de la curva de calibración, obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 100ppm de cloruro de amonio (Anexo 1).

### **b. Cuantificación de fosfato solubilizado *in vitro***

La cuantificación de fosfato solubilizado *in vitro* por las bacterias investigadas se realizó con el método colorimétrico: Técnica del molibdato (Alvarado y Valderrama, 2014). El inóculo (5%: 0,25mL) de cada cultivo bacteriano se sembró por triplicado en 5mL de caldo National Botanical Research Institute's phosphate, NBRIP (Anexo 2) y se incubaron a 30°C, con agitación (150rpm), por 192 horas. Después, los caldos fueron centrifugados a 3000rpm por 5 minutos y en el sobrenadante se cuantificó el fósforo soluble (Rodier y Rodi, 2005), considerándose una coloración azul positiva a la solubilización del fosfato. La absorbancia se leyó en espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 690nm y las concentraciones de fósforo soluble se calcularon con la ecuación de la curva de calibración, obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 10ppm de fósforo (Anexo 2).

### **c. Cuantificación de indoles producidos *in vitro***

La cuantificación de indoles producidos *in vitro* se realizó según el método colorimétrico: Técnica de Salkowski (García et al., 2010). El inóculo (5%:0,25mL) de cada cultivo bacteriano fue sembrado por triplicado en 5mL de caldo tripticasa soya suplementado con triptófano (Anexo 3). Después de la incubación a 30°C, por 192 horas, en agitación constante (150rpm), los cultivos se centrifugaron a 3000rpm, durante 5 minutos. A continuación, 0,4mL de cada sobrenadante se depositaron en tubos, se agregaron 1,6mL de reactivo de Salkowski modificado, se mezclaron y se dejaron en reposo durante 30 minutos en oscuridad. La reacción se consideró positiva a la producción de indoles por la aparición de una coloración grosella, leyéndose la absorbancia en espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 530nm. Las concentraciones de indoles se calcularon con la ecuación de la curva de calibración obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 100ppm de ácido indol acético (Anexo 3).

### **3.2.6 Segunda fase: Efecto de Actinobacterias en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill.**

El efecto de las Actinobacterias en el cultivo de tomate se determinó en dos ensayos, ambos bajo condiciones de invernadero.

#### **a. Primer ensayo**

En el primer ensayo se determinó el efecto de 15 cultivos de Actinobacterias en la altura de plantas de tomate, durante 60 días, seleccionándose para el siguiente ensayo, los cinco cultivos bacterianos con los que se alcanzaron los mayores valores en los parámetros investigados.

El suelo experimental estuvo constituido por 144kg de una mezcla de suelo agrícola, arena de río y humus en la proporción 2:1:1, que fue distribuido en macetas de arcilla de 3,5kg, a razón de 3kg por maceta (Figura 4). El análisis físico-químico del suelo se realizó en el Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agrícola, Estación Experimental Vista Florida de Chiclayo (Tabla 1), determinándose, una textura franco-arenosa, pH ligeramente alcalino (7,2), moderada salinidad (7,9 dSm<sup>-1</sup>), contenido medio de materia orgánica (2,55%) y contenido alto de fósforo disponible (20,4ppm) y potasio (278ppm).

El cultivo de tomate y la inoculación de Actinobacterias se realizó entre el 7 de marzo al 5 de mayo de 2017, registrándose las temperaturas máxima (31°C), mínima (24°C) y media (26°C), valores obtenidos por la Estación Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, ubicado en el fundo “El Cienago” de Lambayeque (Anexo 4).

En el ensayo se sembraron semillas de tomate cv Río Grande que se comercializan luego de ser tratadas con el fungicida Tiofanate metil-Tiram (Homai W.P) en la dosis de 2gkg<sup>-1</sup> de semillas. El cultivar precoz de tomate Río Grande fue obtenido por la compañía californiana Petoseed. Las plantas son de crecimiento determinado, con resistencia a *Verticillium*, *Fusarium* y *Alternaria alternata*. Requiere 78 días para la madurez fisiológica y 105-140 días (128 días) para el inicio de la cosecha, con un promedio de 4 a 5kg de frutos ovalados por planta, un peso de 150 a 180g por fruto y un rendimiento de hasta 30tha<sup>-1</sup> (Soplopucó y Navarro, 2005).



**Figura 4.** Suelo experimental contenido en macetas de arcilla.

**Tabla 1.** Análisis físico-químico de suelo agrícola experimental, 2017

Clase		CE	MO	N	P	K
Textual	pH	(dSm <sup>-1</sup> )	(%)	(%)	(ppm)	(ppm)
Franco-Arenosa	7,2	7,9	2.55	0,103	20,4	278



El porcentaje de germinación de las semillas de tomate se determinó en cinco placas de Petri, en cuyo fondo se colocó papel filtro, humedecido con agua destilada esterilizada y con ayuda de pinzas esterilizadas se depositaron 20 semillas de tomate por placa. Las placas de Petri se taparon y se incubaron a una temperatura de 30°C, humedeciéndolas diariamente hasta observar el máximo de germinación (Figura 5).

El inóculo fue obtenido con Actinobacterias cultivadas en caldo nutritivo, a 30°C, durante 72 horas y después de la centrifugación se obtuvieron 500mL (Figura 6) de cada cultivo bacteriano en solución salina esterilizada, NaCl 0,85% p/v, cuya concentración se estandarizó a  $10^8 \text{ cel mL}^{-1}$  por turbidimetría en el espectofotómetro a 540nm.

Las semillas de tomate (12) se depositaron en 16 bolsas de polietileno transparentes de 2,5x8,0 cm y sobre ellas se depositó 0,1mL del inóculo correspondiente por bolsa, equivalente a  $173 \text{ mL Kg}^{-1}$  de semilla (Figura 7). Se incluyó un testigo al que se le aplicó agua destilada. El contenido de las bolsas se homogenizó para que las bacterias se distribuyan uniformemente en las semillas y después las bolsas se llevaron hacia la estufa a 30°C, durante 30 minutos, para disminuir el exceso de humedad (Delgado y Suyón, 2017). A continuación, las semillas se sembraron en el suelo experimental, a razón de tres semillas por maceta a una profundidad de 2cm. A los 15 días de la siembra se eliminó la plántula menos vigorosa y se realizaron los riegos correspondientes, con agua declorada (24 horas), según los requerimientos de las plantas.

Transcurridos 15, 30, 45 y 60 días después de la siembra se midió la altura de las plantas (Figura 8), considerándose desde la base del tallo hasta el ápice vegetativo del tallo principal (Carreño, 2009). A los 60 días se midió la longitud de la raíz. Con los valores de la altura y longitud de raíces, se calcularon los índices de efectividad de la inoculación (IEI) en porcentaje, mediante la fórmula (Carreño, 2009) siguiente:

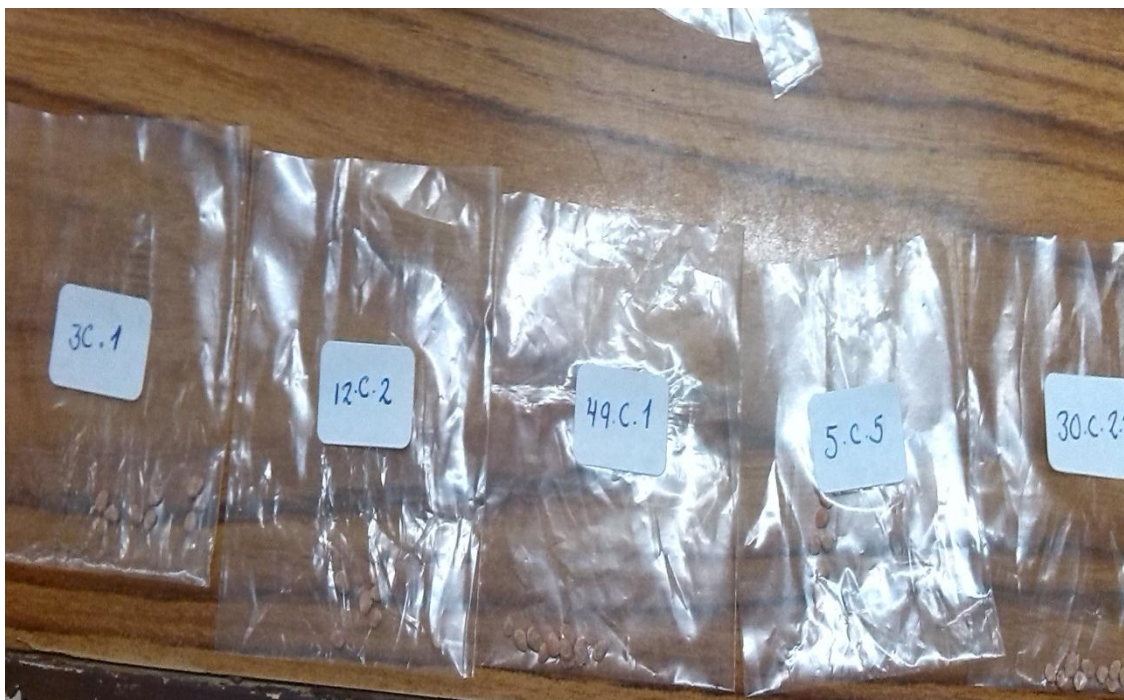
$$\text{IEI (\%)} = \frac{\text{Tratamiento con inoculación} - \text{Control sin inoculación}}{\text{Control sin inoculación}} \times 100$$



**Figura 5.** Semillas de *Lycopersicon esculentum* Mill. germinadas.



**Figura 6.** Inóculo de Actinobacterias en solución salina esterilizada.



**Figura 7.** Semillas de *Lycopersicon esculentum* Mill. inoculadas con Actinobacterias.



**Figura 8.** Medición de altura de planta de *Lycopersicon esculentum* Mill.

## **b. Segundo ensayo**

En el segundo ensayo se determinó el efecto de cinco cultivos de Actinobacterias en el desarrollo vegetativo y reproductivo de plantas de tomate, en condiciones de invernadero. Las Actinobacterias se aplicaron en inoculación doble: en las semillas, antes de la siembra y en las raíces al momento del trasplante.

El suelo experimental estuvo constituido por 8,925 kg de una mezcla de arena de río y humus (1:1) distribuido en vasos de tecnopor de 16 onzas de capacidad, a razón de 425 g por vaso (Figura 9), para la siembra de las semillas y 84 kg de una mezcla de suelo agrícola, arena de río y humus (2:1:1), distribuido en macetas de 5 kg de capacidad, a razón de 4 kg por maceta. El cultivo de tomate y la inoculación de las bacterias se realizó entre 12 de mayo al 18 de octubre de 2017, registrándose las temperatura máxima (26°C), mínima (17°C) y media (21°C), valores obtenidos por la Estación Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, ubicado en el fundo “El Cienago” de Lambayeque (Anexo 4).

El inóculo bacteriano y su aplicación en las semillas de tomate se realizó de manera similar a lo explicado en el ítem 3.2.6 a. Las semillas previamente inoculadas se sembraron en los vasos de tecnopor con el suelo experimental a razón de cinco semillas por vaso, realizándose los riegos correspondientes con agua declorada (24 horas) según los requerimientos de las plantas. A los 7 días se determinó el porcentaje de emergencia y a los 15 y 30 días se midió la altura de las plántulas (Figura 10).

A los 30 días, en cada tratamiento se seleccionaron las dos plántulas con la mayor altura, cuidadosamente se extrajeron, se retiró el suelo radicular y las raíces se sumergieron (Figura 11) en un depósito conteniendo 300mL del inóculo bacteriano previamente obtenido y estandarizado a una concentración de  $10^8 \text{ cel mL}^{-1}$ . Después de 10 minutos las plántulas se trasplantaron en las macetas conteniendo al suelo experimental. En el testigo absoluto, las raíces se sumergieron en agua declorada y en el testigo químico se aplicó fertilizante químico 180N:100P:120K.





**Figura 9.** Suelo experimental contenido en vasos de tecnopor.



**Figura 10.** Plántulas de *Lycopersicon esculentum* Mill. cultivadas en condiciones de invernadero.



**Figura 11.** Inmersión de raíces de *Lycopersicon esculentum* Mill. en inóculo de Actinobacteria.

El nitrógeno se aplicó como urea (46%N), el fósforo como fosfato diamónico (18%N, 46%P) y el potasio como sulfato de potasio (50%K), correspondiendo 0,7g de urea; 0,8g de fosfato diamónico y 0,8g sulfato de potasio por maceta (Anexo 5). La aplicación de nitrógeno en forma de urea (46%N), en la dosis de  $391\text{kg ha}^{-1}$ , se realizó fraccionada, 1/3 después de 15 días del trasplante y los 2/3 restantes 15 días después. El fósforo y el potasio se aplicaron junto con la primera dosis de nitrógeno, al momento del trasplante. Cada 15 días después del trasplante hasta los 60 días (90 días después de la siembra) se midió la altura de las plantas. Asimismo, se registró el número de días transcurridos desde la siembra hasta la aparición de por lo menos una flor en el 50% de las plantas de cada tratamiento.

Durante el cultivo se controló *Tuta absoluta* “polilla de tomate” y *Prodidiplosis longifila* “caracha” con cinco aplicaciones de Tracer 120 SC (*Bacillus thuringiensis*) a la dosis de  $120\text{g L}^{-1}$  y Regent SC (fipronil) a la dosis de  $210,5\text{g L}^{-1}$ , con intervalos de 7 a 15 días.

La cosecha fue escalonada, recogiendo los frutos en estado “pintón” y realizando dos recolecciones, a los 140 y 160 días después de la siembra. Para determinar el rendimiento, en cada recolección se pesaron los frutos, obteniéndose el peso de los frutos de valor comercial, que según los estándares del mercado local (Carreño, 2009), incluyeron tomates de primera calidad (sanos y de tamaño grande), segunda calidad (sanos de tamaño pequeños) y de tercera calidad (tomates grandes o pequeños, pero con daño de insectos o magulladuras).

### 3.2.7 Análisis estadístico de los datos

Para el diseño experimental completamente aleatorio, el modelo aditivo lineal fue:

$$Y_{ij} = u + t_i + E_{ij}$$

Dónde:

$Y_{ij}$  = observación del i-ésimo tratamiento, J-énésima repetición

$u$  = media general de la variable respuesta.

$t_i$  = efecto I-ésimo tratamiento, siendo  $i = 1, 2, 3, \dots, 16$  (Primer ensayo)

$t_i$  = efecto I-ésimo tratamiento, siendo  $i = 1, 2, 3, \dots, 7$  (Segundo ensayo)

$E_{ij}$  = error experimental en el i-ésimo tratamiento, j-ésima repetición

$H_0 = u_1 = u_2 = u_3, \dots = u_{16}$  (Primer ensayo)

$H_0 = u_1 = u_2 = u_3, \dots = u_7$  (Segundo ensayo)

$H_a$  = al menos una media diferente

Con los valores de altura y número de tallos de las plantas se realizaron las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza y según los resultados se llevaron a cabo los análisis paramétricos análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Hernández et al., 2014). En el presente trabajo se utilizó el software estadístico SPSS versión 15,0 así como los programas de Microsoft Office Word, Excel versión 2013 y Minitab 15.



## IV RESULTADOS

### 4.1 Nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos

Las bacterias investigadas fijaron nitrógeno, solubilizaron fosfato y produjeron indoles *in vitro*, cuantificándose 7,744 a 31,513ppm de amonio; 0,275 a 4,725ppm de fósforo soluble y 30,022 a 58,911ppm de indoles (Tabla 2).

### 4.2 Efecto de 15 cultivos de Actinobacterias en la altura y longitud de raíces de *Lycopersicon esculentum* Mill.

El 100% (15) de cultivos de Actinobacterias incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 15 días después de la siembra (Figuras 12, 13), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 3) de 24,53% (*Micromonospora* sp.45.1) a 101,09% (*Streptomyces* sp.50.1). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Streptomyces* sp.50.1, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 4).

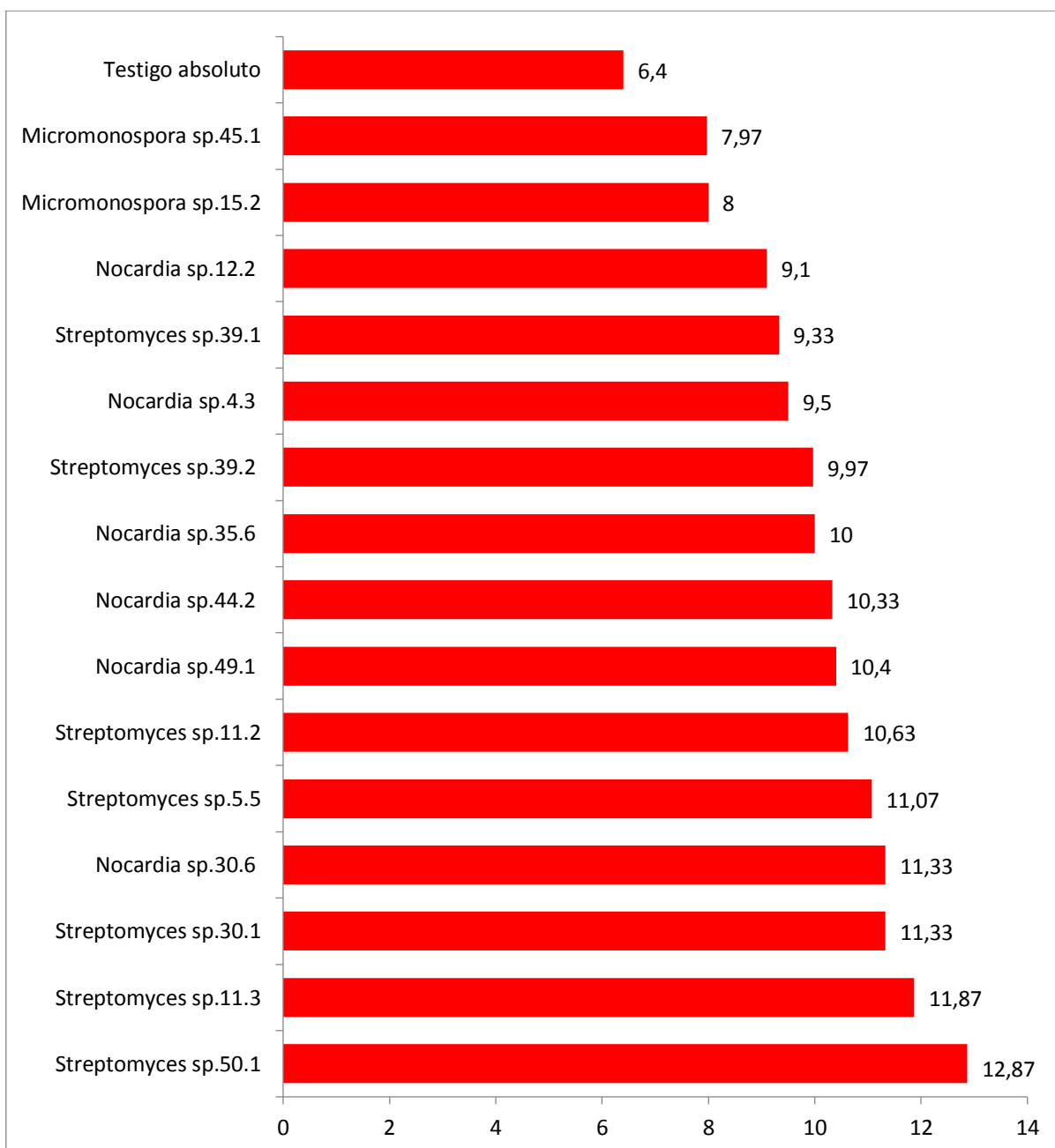
El 100% (15) de cultivos de bacterias fijadoras de nitrógeno incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 30 días después de la siembra (Figuras 14, 15), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 3) de 23,03% (*Nocardia* sp.4.3) a 102,55% (*Streptomyces* sp.50.1). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Streptomyces* sp.50.1, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 4).

**Tabla 2.** Nitrógeno fijado como amonio, fósforo soluble e indoles producidos por Actinobacterias

<b>Actinobacterias</b>	<b>Amonio (ppm)</b>	<b>Fósforo soluble (ppm)</b>	<b>Indoles (ppm)</b>
<i>Nocardia</i> sp.4.3	31,513	3,598	34,911
<i>Streptomyces</i> sp.5.5	31,256	-	37,577
<i>Streptomyces</i> sp.39.1	30,667	2,760	38,244
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	29,528	-	38,911
<i>Micromonospora</i> sp.15.2	29,307	3,613	38,687
<i>Nocardia</i> sp.44.2	13,167	4,725	37,800
<i>Nocardia</i> sp.35.6	11,256	4,379	30,022
<i>Streptomyces</i> sp.11.3	23,039	4,292	58,466
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	23,792	4,031	39,578
<i>Nocardia</i> sp.49.1	15,759	4,118	41,133
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	22,542	4,275	58,911
<i>Micromonospora</i> sp.45.1	7,744	2,746	44,022
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	20,281	4,205	48,911
<i>Nocardia</i> sp.12.2	9,893	-	48,244
<i>Nocardia</i> sp.30.6	13,627	-	46,022



**Figura 12.** Plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. 15 días después de la inoculación de Actinobacterias.



**Figura 13.** Altura (cm) de *Lycopersicon esculentum* Mill. 15 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.

**Tabla 3.** Índices de efectividad en la altura de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill., 15, 30, 45 y 60 días después de la inoculación de Actinobacterias

Actinobacterias	IE (%)			
	15 días	30 días	45 días	60 días
<i>Nocardia</i> sp.4.3	48,44	23,03	0	0
<i>Streptomyces</i> sp.5.5	72,97	63,32	26,97	0
<i>Streptomyces</i> sp.39.1	45,78	52,51	19,87	0
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	77,03	60,77	24,75	4,72
<i>Micromonospora</i> sp.15.2	25,00	27,53	7,88	0
<i>Nocardia</i> sp.44.2	61,41	50,04	28,95	9,64
<i>Nocardia</i> sp.35.6	56,25	55,51	35,84	16,49
<i>Streptomyces</i> sp.11.3	85,47	72,54	50,82	17,91
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	66,09	58,29	37,04	14,83
<i>Nocardia</i> sp.49.1	62,50	55,06	31,85	11,95
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	101,09	102,55	73,81	24,63
<i>Micromonospora</i> sp.45.1	24,53	32,56	26,85	18,21
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	55,78	53,26	45,04	28,91
<i>Nocardia</i> sp.12.2	42,19	27,53	23,85	18,81
<i>Nocardia</i> sp.30.6	77,03	57,54	38,84	19,71

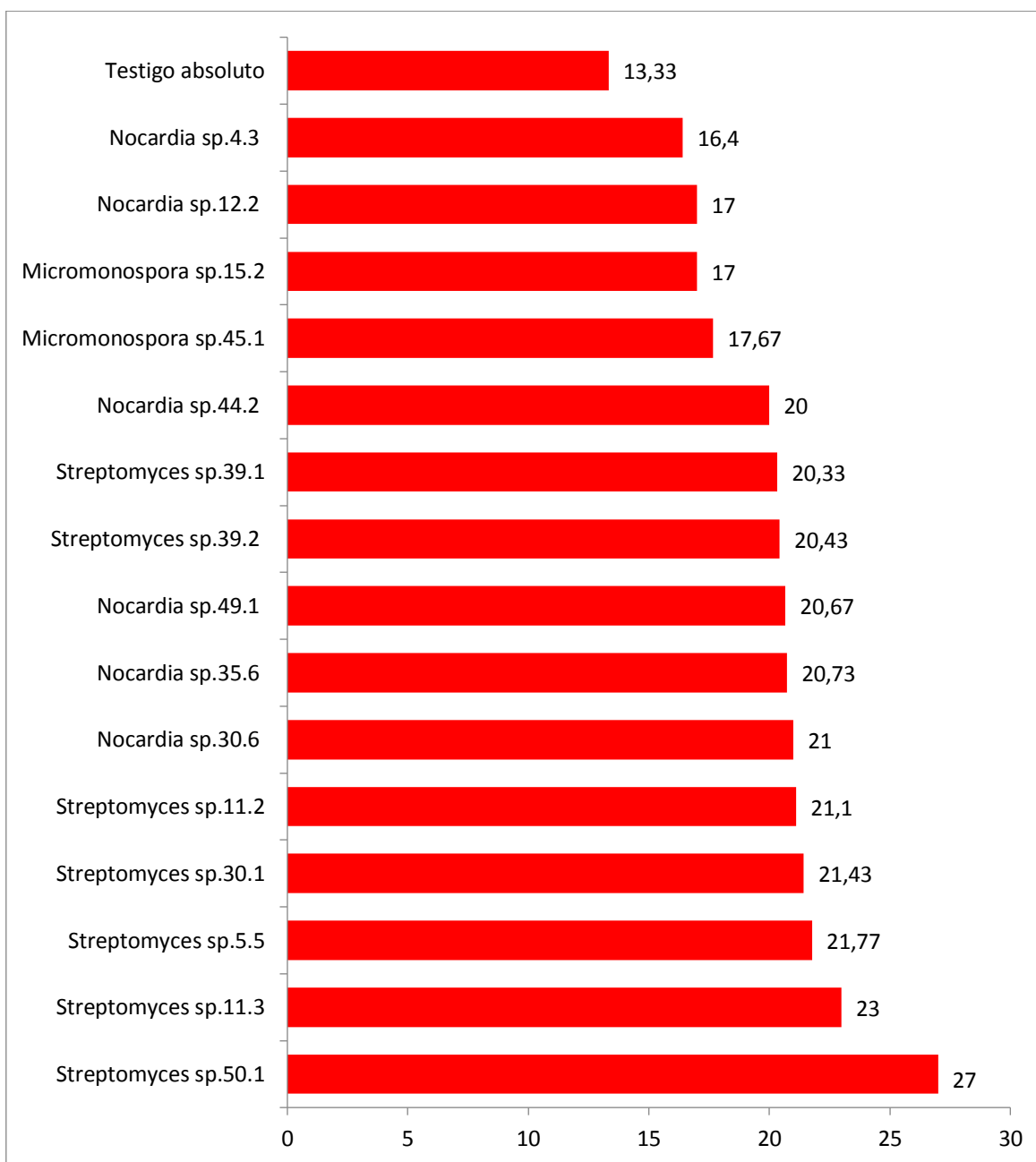
\*Promedio de tres repeticiones

**Tabla 4.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. 15, 30, 45 y 60 días después de la inoculación de Actinobacterias

Tratamientos	Altura (cm)							
	15 días	Sign.	30 días	Sign.	45 días	Sign	60 días	Sign.
<i>Nocardia</i> sp.4.3	9,50	cdef	16,40	ef	31,00	f	51,00	f
<i>Streptomyces</i> sp.5.5	11,07	cde	21,77	bc	42,37	de	77,33	de
<i>Streptomyces</i> sp.39.1	9,33	cdef	20,33	bcd	40,00	de	71,43	def
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	11,33	bcd	21,43	bc	41,63	de	81,50	cd
<i>Micromonospora</i> sp.15.2	8,00	def	17,00	cde	36,00	def	73,80	def
<i>Nocardia</i> sp.44.2	10,33	cde	20,00	bcd	43,03	cde	85,33	cd
<i>Nocardia</i> sp.35.6	10,00	cde	20,73	bcd	45,33	cde	90,67	bc
<i>Streptomyces</i> sp.11.3	11,87	bc	23,00	b	50,33	b	91,77	bc
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	10,63	cde	21,10	bc	45,73	cde	89,37	c
<i>Nocardia</i> sp.49.1	10,40	cde	20,67	bcd	44,00	cde	87,13	cd
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	12,87	a	27,00	a	58,00	a	97,00	b
<i>Micromonospora</i> sp.45.1	7,97	ef	17,67	cde	42,33	de	92,00	bc
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	9,97	cdef	20,43	bcd	48,40	bc	100,33	a
<i>Nocardia</i> sp.12.2	9,10	cdef	17,00	cde	41,33	de	92,47	bc
<i>Nocardia</i> sp.30.6	11,33	bcd	21,00	bc	46,33	bc	93,17	bc
Testigo absoluto	6,40	f	13,33	f	33,37	ef	77,83	de



**Figura 14.** Plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. 30 días después de la inoculación de Actinobacterias, a) *Micromonospora* sp.45.1, b) *Streptomyces* sp.30.1, c) *Streptomyces* sp.39.2



**Figura 15.** Altura (cm) de *Lycopersicon esculentum* Mill. 30 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.



El 93,33% (14) de cultivos de Actinobacterias incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 45 días después de la siembra (Figuras 16, 17), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 3) de 7,88% (*Micromonospora* sp.15.1) a 73,81% (*Streptomyces* sp.50.1). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Streptomyces* sp.50.1, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 4).

El 73,33% (11) de cultivos de Actinobacterias incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 60 días después de la siembra (Figura 18), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 3) de 4,72% (*Streptomyces* sp.50.1) a 28,91% (*Streptomyces* sp.39.2). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Streptomyces* sp.39.2, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 4).

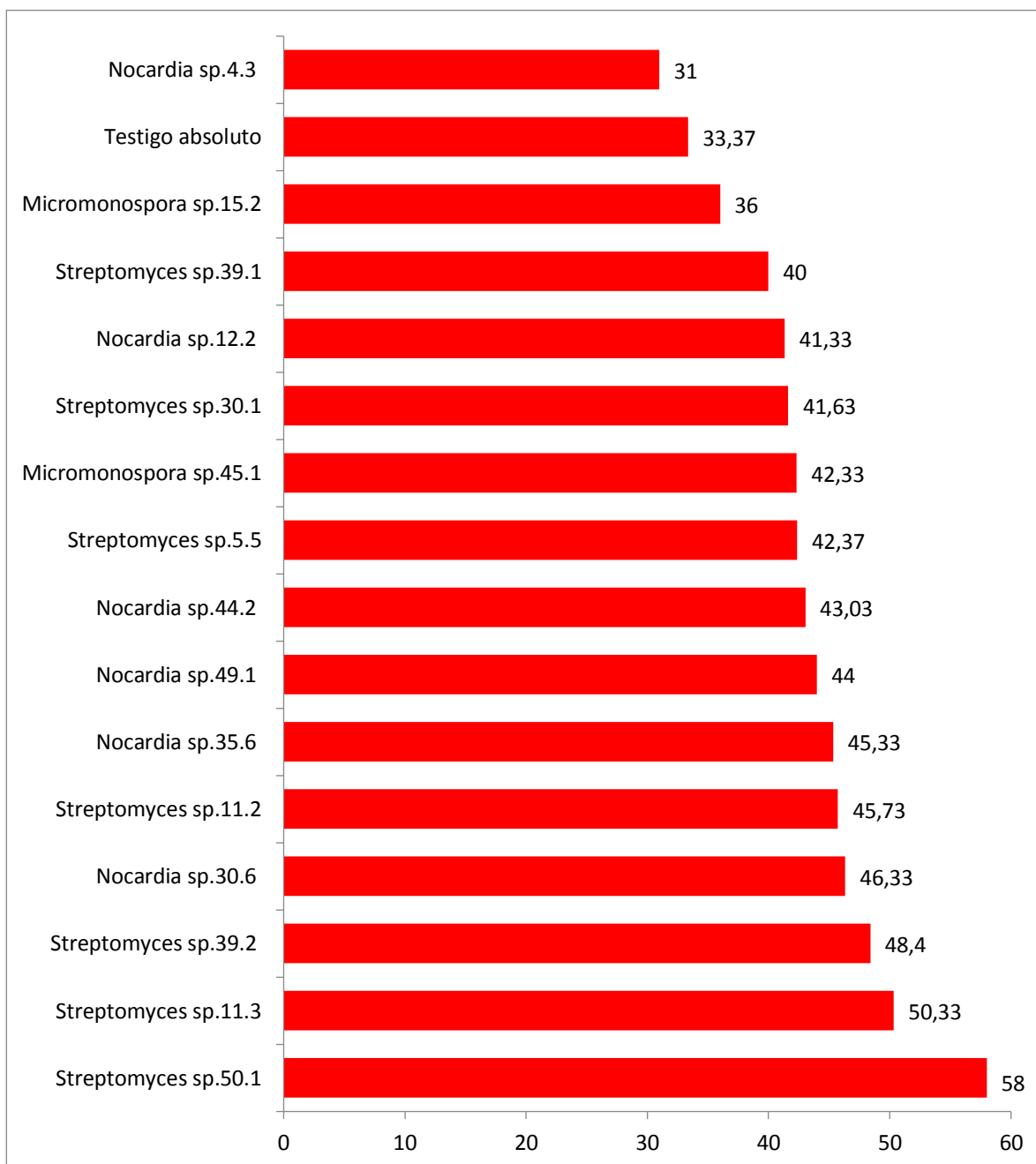
El 66,67% (10) de cultivos de Actinobacterias incrementaron la longitud de la raíz de las plantas de tomate, a los 60 días después de la siembra (Figuras 19, 20), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 5) de 1,74% (*Nocardia* sp.35.6) a 43,84% (*Streptomyces* sp.50.1). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Streptomyces* sp.50.1, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 5).

#### **4.3 Cultivos de Actinobacterias seleccionadas**

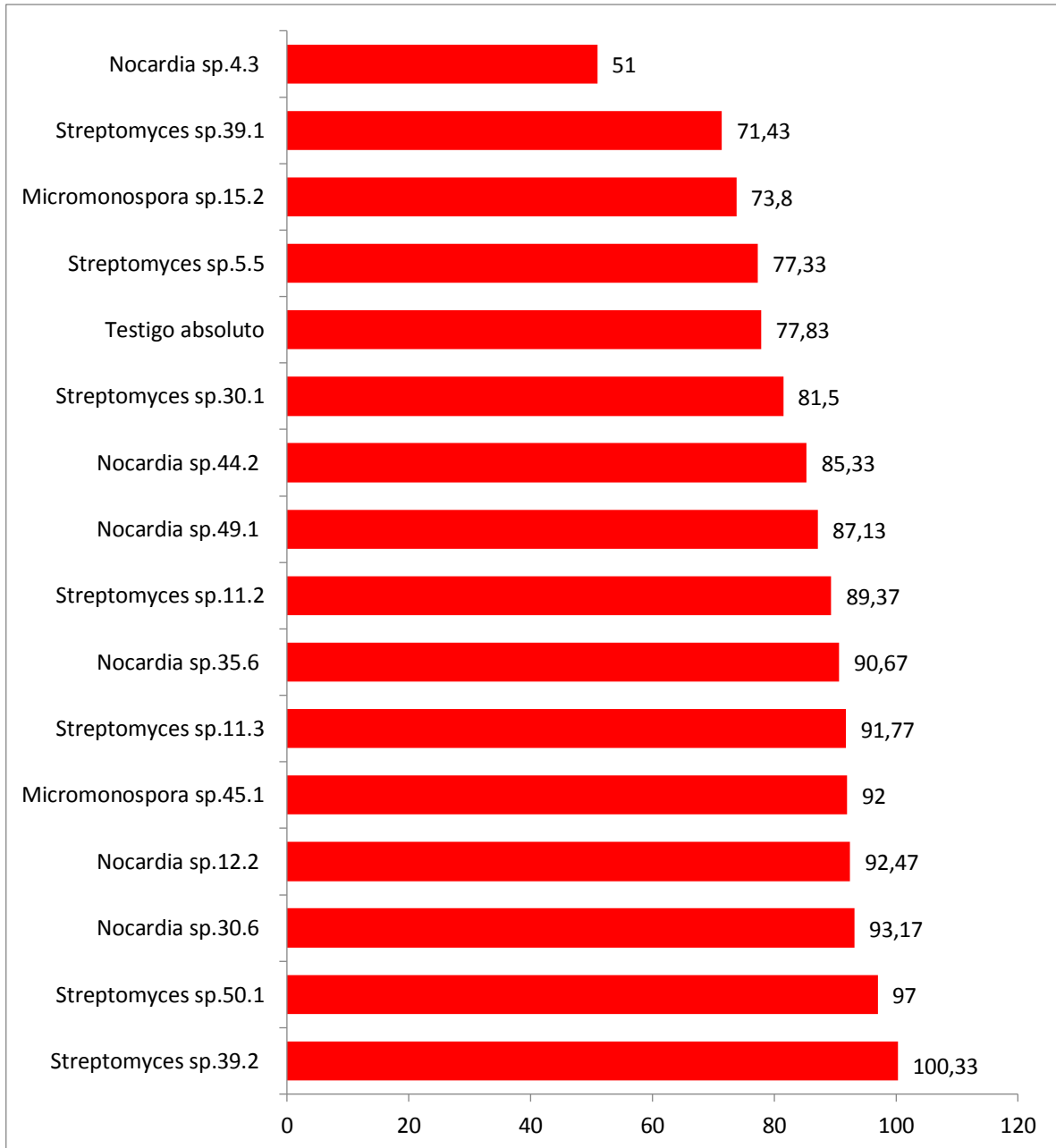
Las Actinobacterias seleccionadas (Figura 21, tabla 6), fueron las que alcanzaron los mayores índices de efectividad en la altura (tres cultivos bacterianos) y en la longitud de las raíces de tomate (dos cultivos bacterianos).



**Figura 16.** Plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. 45 días después de la inoculación de Actinobacterias, a) *Nocardia* sp.4.3, b) *Micromonospora* sp.15.2, c) *Streptomyces* sp.50.1.



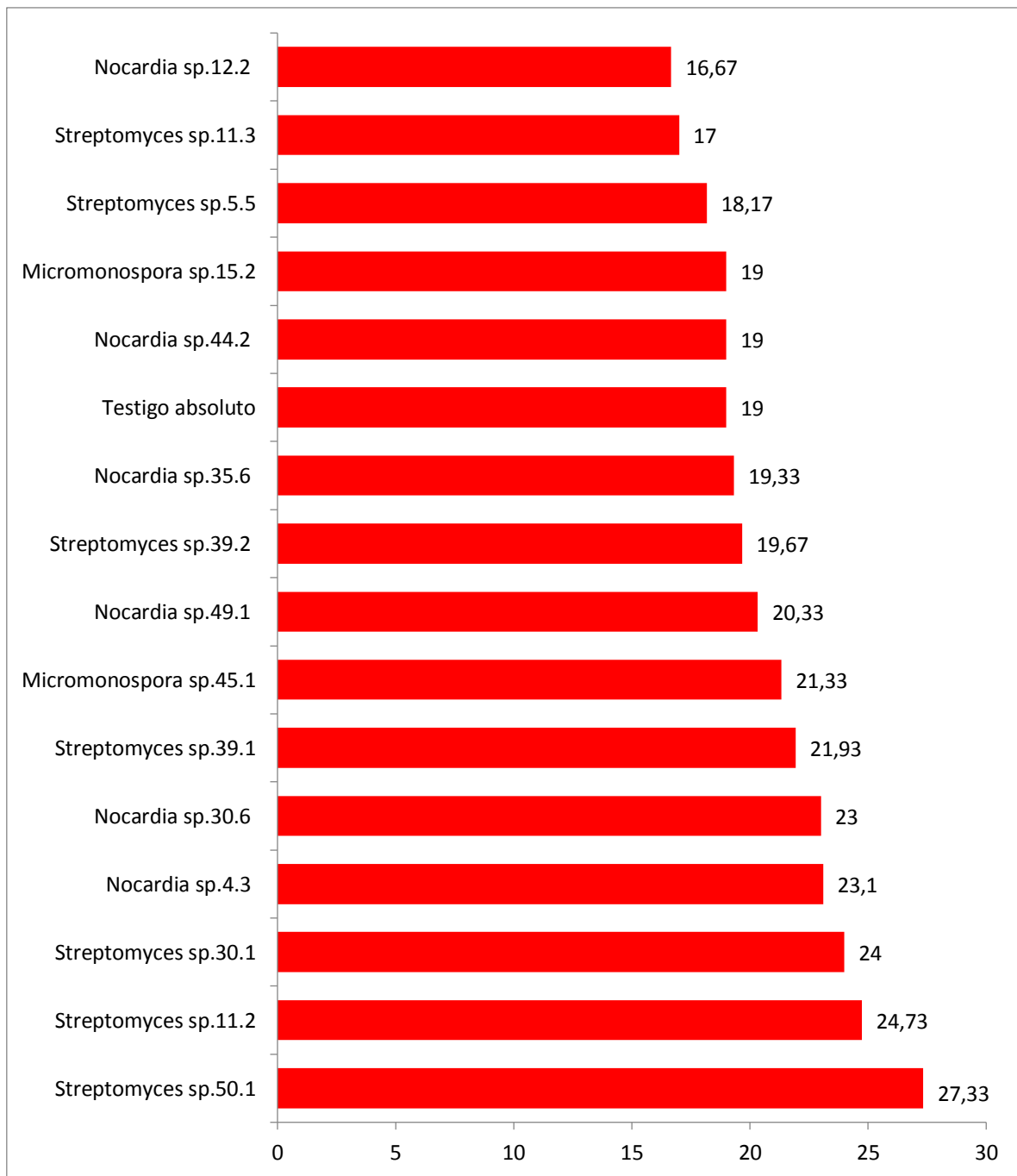
**Figura 17.** Altura (cm) de *Lycopersicon esculentum* Mill. 45 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.



**Figura 18.** Altura (cm) de *Lycopersicon esculentum* Mill. 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.



**Figura 19.** Raíces de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, a) Testigo absoluto, b) *Nocardia* sp.49.1, c) *Streptomyces* sp.30.1, d) *Streptomyces* sp.50.1.



**Figura 20.** Longitud (cm) de raíces de *Lycopersicon esculentum* Mill. 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.

**Tabla 5.** Índices de efectividad (%) y prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la longitud de raíces de *Lycopersicon esculentum* Mill., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias

Tratamientos	Longitud (cm)	IE (%)	Sign. ( $\alpha= 0.05$ )
<i>Nocardia</i> sp.4.3	23,10	21,05	abc
<i>Streptomyces</i> sp.5.5	18,17	0	ef
<i>Streptomyces</i> sp.39.1	21,93	15,42	cd
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	24,00	26,32	ab
<i>Micromonospora</i> sp.15.2	19,00	0	de
<i>Nocardia</i> sp.44.2	19,00	0	de
<i>Nocardia</i> sp.35.6	19,33	1,74	de
<i>Streptomyces</i> sp.11.3	17,00	0	ef
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	24,73	30,16	ab
<i>Nocardia</i> sp.49.1	20,33	7,00	cd
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	27,33	43,84	a
<i>Micromonospora</i> sp.45.1	21,33	12,26	cd
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	19,67	3,53	d
<i>Nocardia</i> sp.12.2	16,67	0	ef
<i>Nocardia</i> sp.30.6	23,00	21,05	abc
Testigo absoluto	19,00	-	de

\*Promedio de tres repeticiones



**Figura 21.** Cultivos de Actinobacterias seleccionados.

**Tabla 6.** Índices de efectividad (%) en la altura de planta y longitud de raíces de *Lycopersicon esculentum* Mill. por Actinobacterias seleccionadas

Actinobacterias	IE (%)				
	Altura de planta/días				Longitud de raíces/días
	15	30	45	60	60
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	55,78	53,26	45,04	28,91	3,53
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	101,09	102,55	73,81	24,63	43,84
<i>Nocardia</i> sp.30.6	77,03	57,54	38,84	19,71	21,05
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	77,03	60,77	24,75	4,72	26,32
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	66,09	58,29	37,04	14,83	30,16



#### **4.4 Efecto de Actinobacterias seleccionadas en el desarrollo vegetativo y reproductivo de *Lycopersicon esculentum* Mill.**

El 60% (3) de cultivos de Actinobacterias incrementaron la emergencia de las plántulas de tomate, a los 7 días después de la siembra (Figuras 22, 23), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 7) de 16,67% (*Nocardia* sp.30.6) a 25,00% (*Streptomyces* sp.50.1 y *Streptomyces* sp.11.2).

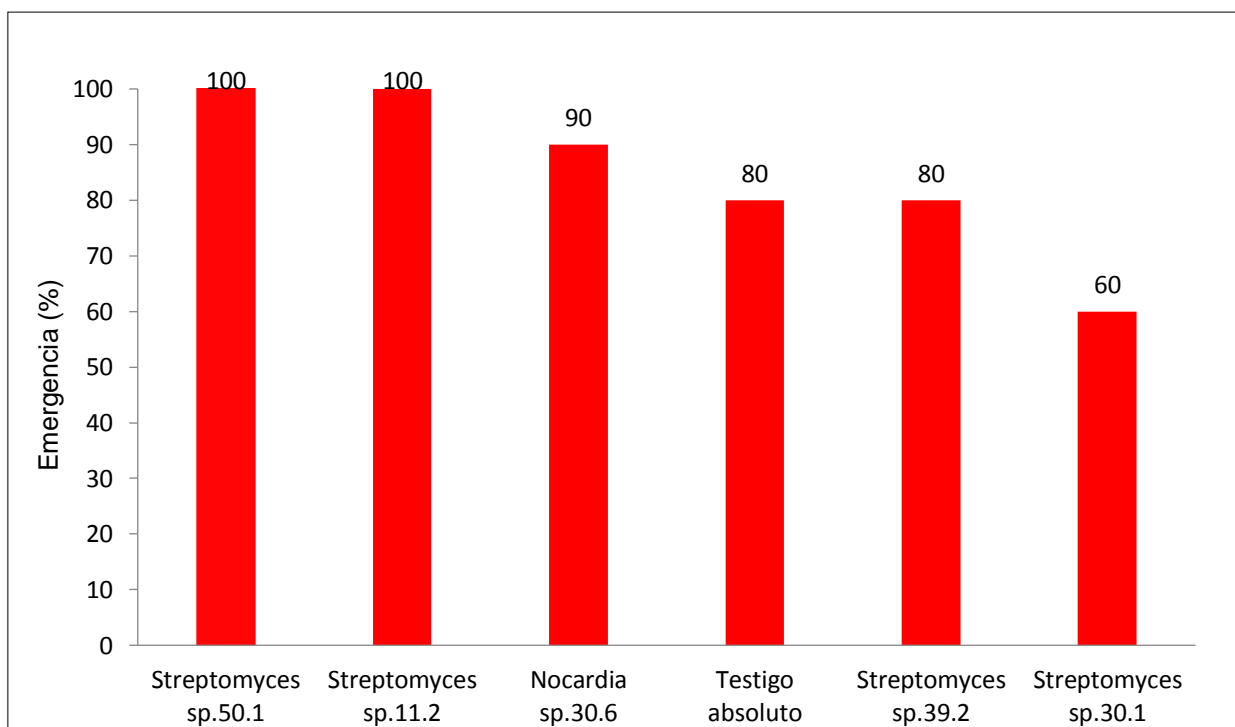
El 100% (5) de cultivos de Actinobacterias incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 15 días después de la siembra (Figuras 24, 25), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 7) de 21,40% (*Nocardia* sp.30.6) a 103,40% (*Streptomyces* sp.11.2). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Streptomyces* sp.11.2, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 8).

El 100% (5) de cultivos de Actinobacterias incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 30 días después de la siembra (Figuras 26, 27), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 7) de 50,29% (*Nocardia* sp.30.6) a 73,01% (*Streptomyces* sp.50.1). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los mayores valores se alcanzaron con *Streptomyces* sp.50.1 y *Streptomyces* sp.11.2, no diferenciándose significativamente de *Streptomyces* sp.30.1, pero si de los demás tratamientos (Tabla 8).

El 100% (5) de cultivos de Actinobacterias incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 45 días después de la siembra (Figuras 28, 29), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 9) de 7,59% (*Streptomyces* sp.39.2) a 56,05% (*Streptomyces* sp.11.2). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Streptomyces* sp.11.2, no diferenciándose significativamente de *Streptomyces* sp.30.1, pero si de los demás tratamientos (Tabla 10).



**Figura 22.** Emergencia de *Lycopersicon esculentum* Mill., 7 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.



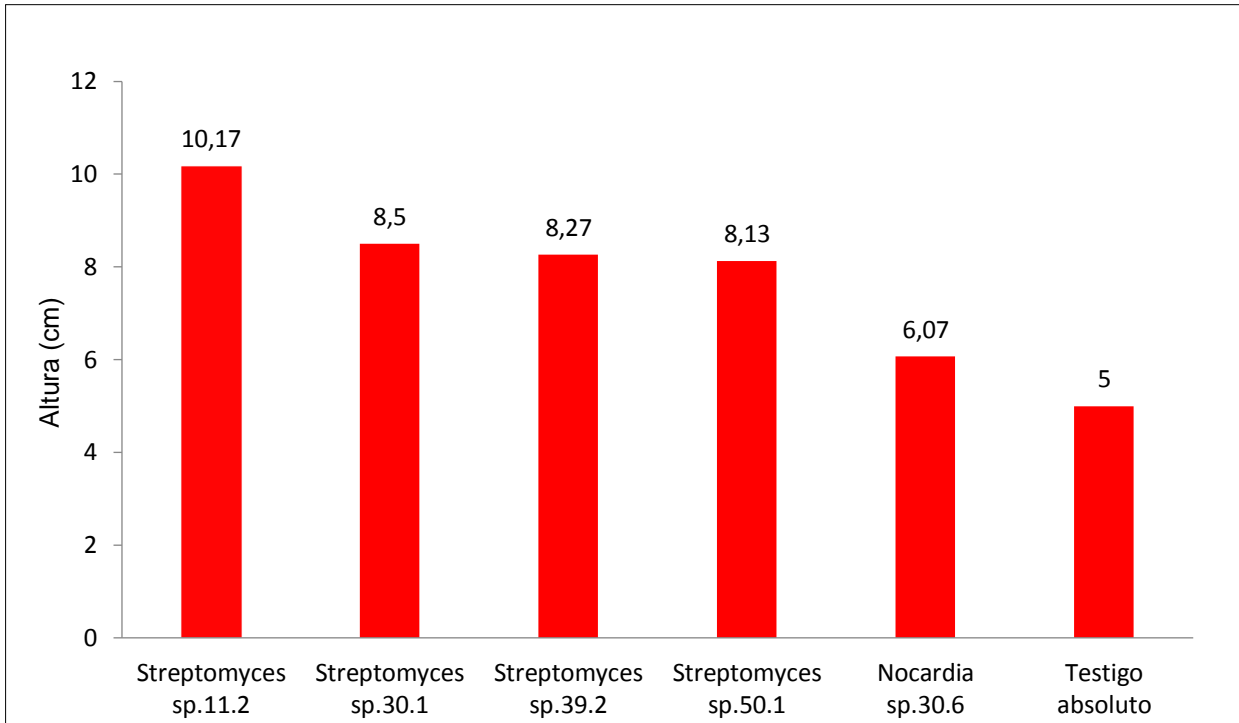
**Figura 23.** Emergencia de *Lycopersicon esculentum* Mill., 7 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.

**Tabla 7.** Índices de efectividad (%) en la emergencia y altura de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. por Actinobacterias seleccionadas

Tratamientos	IE (%)		
	Emergencia	Altura (15 días)	Altura (30 días)
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	0	65,40	55,36
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	25,00	62,60	73,01
<i>Nocardia</i> sp.30.6	16,67	21,40	50,29
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	0	70,00	61,48
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	25,00	103,40	72,20



**Figura 24.** Altura (cm) de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill., 15 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.



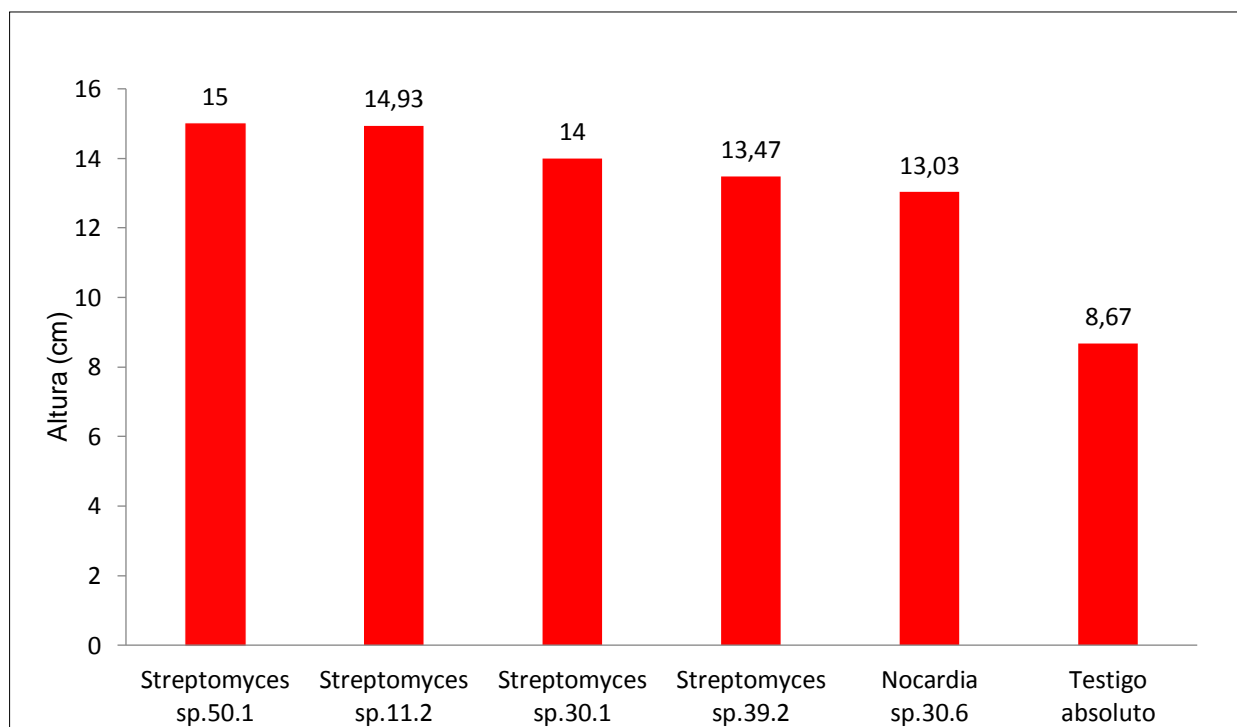
**Figura 25.** Altura (cm) de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill., 15 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.

**Tabla 8** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill., 15 y 30 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas

Tratamientos	Altura (cm)			
	15 días	Sign.	30 días	Sign.
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	8,27	cd	13,47	cd
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	8,13	cd	15,00	a
<i>Nocardia</i> sp.30.6	6,07	def	13,03	de
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	8,50	bcd	14,00	abc
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	10,17	A	14,93	a
Testigo absoluto	5,00	F	8,67	f

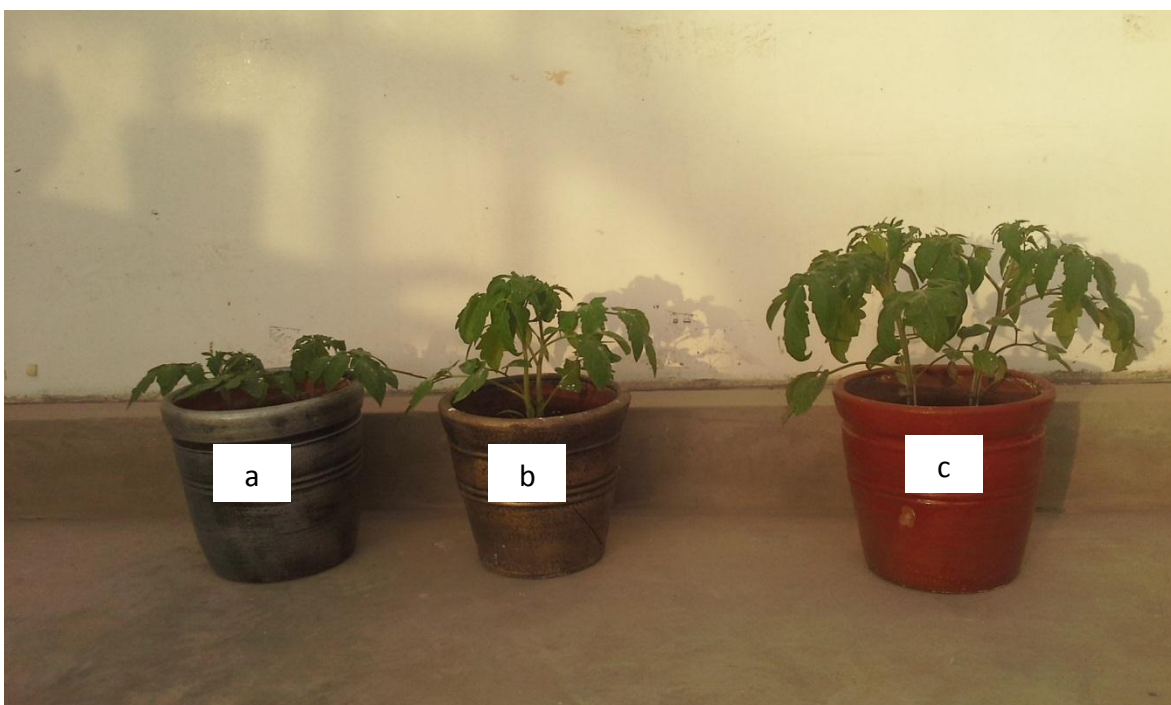


**Figura 26.** Altura (cm) de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill., 30 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.

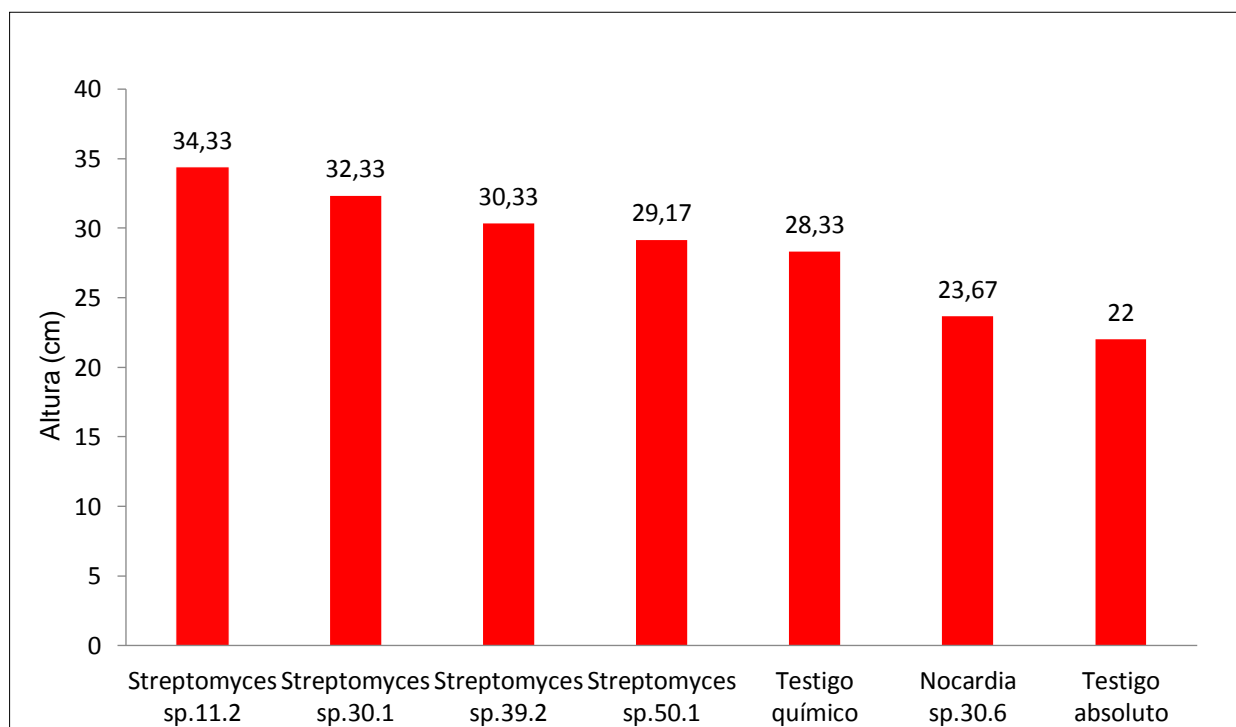


**Figura 27.** Altura (cm) de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill., 30 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.





**Figura 28.** Plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. 45 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017, a) Testigo absoluto, b) Testigo químico, c) *Streptomyces* sp.30.1



**Figura 29.** Altura (cm) de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill., 45 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.

**Tabla 9.** Índices de efectividad (%) en la altura de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. por Actinobacterias inoculadas a la siembra y trasplante

Tratamientos	IE (%)			
	Altura	Altura	Altura	Altura
	(45 días)	(60 días)	(75 días)	(90 días)
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	37,86	21,43	18,75	10,35
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	32,59	16,25	11,66	0,87
<i>Nocardia</i> sp.30.6	7,59	0	0	0
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	46,95	19,48	17,09	6,07
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	56,05	7,79	6,66	1,73
Testigo químico	28,77	11,69	11,25	5,78

\*Promedio de tres repeticiones

**Tabla 10.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la altura de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill., 45, 60, 75 y 90 días después de la inoculación de Actinobacterias a la siembra y trasplante

Tratamientos	Altura (cm)							
	45 días	Sign.	60 días	Sign.	75 días	Sign.	90 días	Sign.
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	30,33	bc	62,33	a	95,00	a	127,27	a
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	29,17	cd	59,67	bc	89,33	ab	116,33	de
<i>Nocardia</i> sp.30.6	23,67	ef	47,33	f	78,67	f	108,33	f
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	32,33	ab	61,33	a	93,67	a	122,33	bc
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	34,33	a	55,33	bc	85,33	cd	117,33	de
Testigo químico	28,33	cd	57,33	bc	89,00	ab	122,00	bc
Testigo absoluto	22,00	f	51,33	de	80,00	ef	115,33	de



El 80% (4) de cultivos de Actinobacterias incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 60 días después de la siembra (Figuras 30 a 32), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 9) de 7,79% (*Streptomyces* sp.11.2) a 21,43% (*Streptomyces* sp.39.2). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los mayores valores se alcanzaron con *Streptomyces* spp.39.2 y 30.1, no diferenciándose significativamente entre ellos pero si de los demás tratamientos (Tabla 10).

El 80% (4) de cultivos de Actinobacterias incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 75 días después de la siembra (Figura 33), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 9) de 6,66% (*Streptomyces* sp.11.2) a 18,75% (*Streptomyces* sp.39.2). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los mayores valores se alcanzaron con *Streptomyces* spp.39.2 y 30.1, no diferenciándose significativamente de *Streptomyces* sp.50.1, pero si con los demás tratamientos (Tabla 10).

El 80% (4) de cultivos de Actinobacterias incrementaron la altura de las plantas de tomate, a los 90 días después de la siembra (Figuras 34 a 35), alcanzándose índices de efectividad (Tabla 9) de 0,87% (*Streptomyces* sp.50.1) a 10,35% (*Streptomyces* sp.39.2). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey el mayor valor se alcanzó con *Streptomyces* sp.39.2, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 10).

El 100% (5) de cultivos de Actinobacterias disminuyeron los días requeridos para la floración, siendo de 95 días con *Streptomyces* sp.30.1 y 97 días con *Streptomyces* sp.50.1 (Figuras 36 a 39), valores correspondientes a índices de efectividad de 6,86 y 4,90%, respectivamente (Tabla 11).

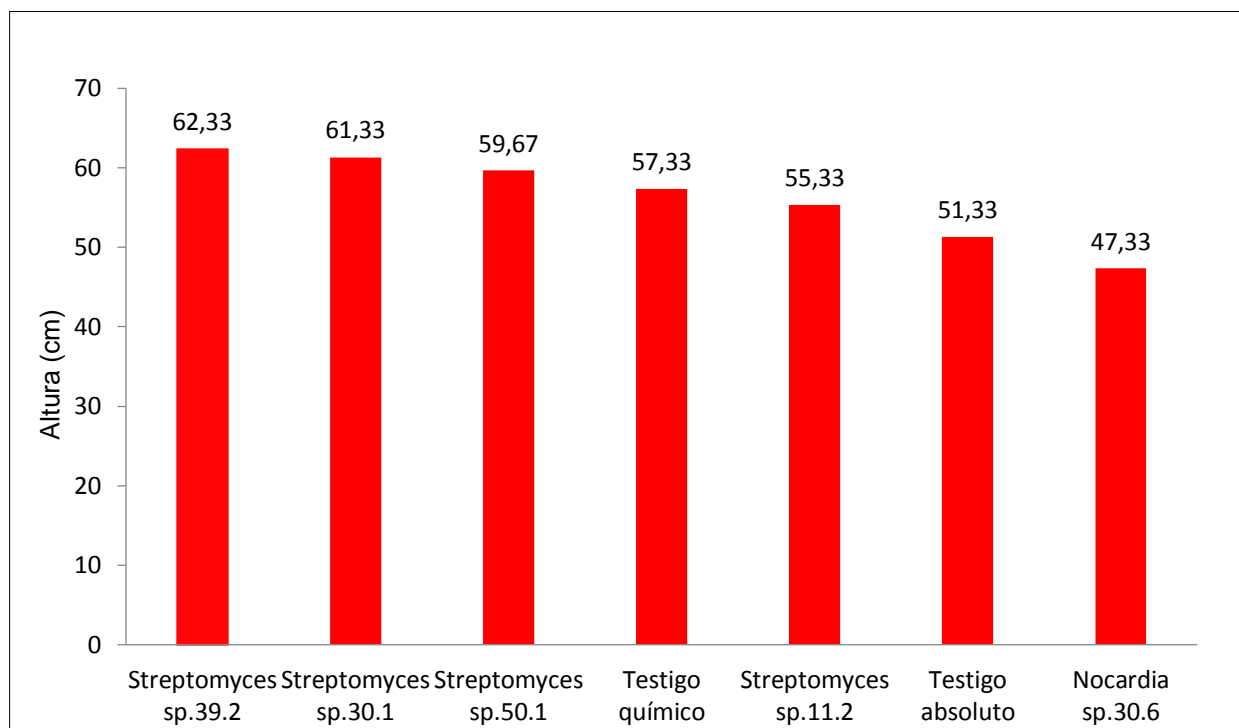
El 100% (5) de cultivos de Actinobacterias disminuyeron los días requeridos para la fructificación, siendo de 125 días con *Streptomyces* sp.11.2 y *Streptomyces* sp.39.2 y 130 días con *Nocardia* sp.30.6 (Figuras 40, 41), valores correspondientes a índices de efectividad de 6,02 y 2,26%, respectivamente (Tabla 12).



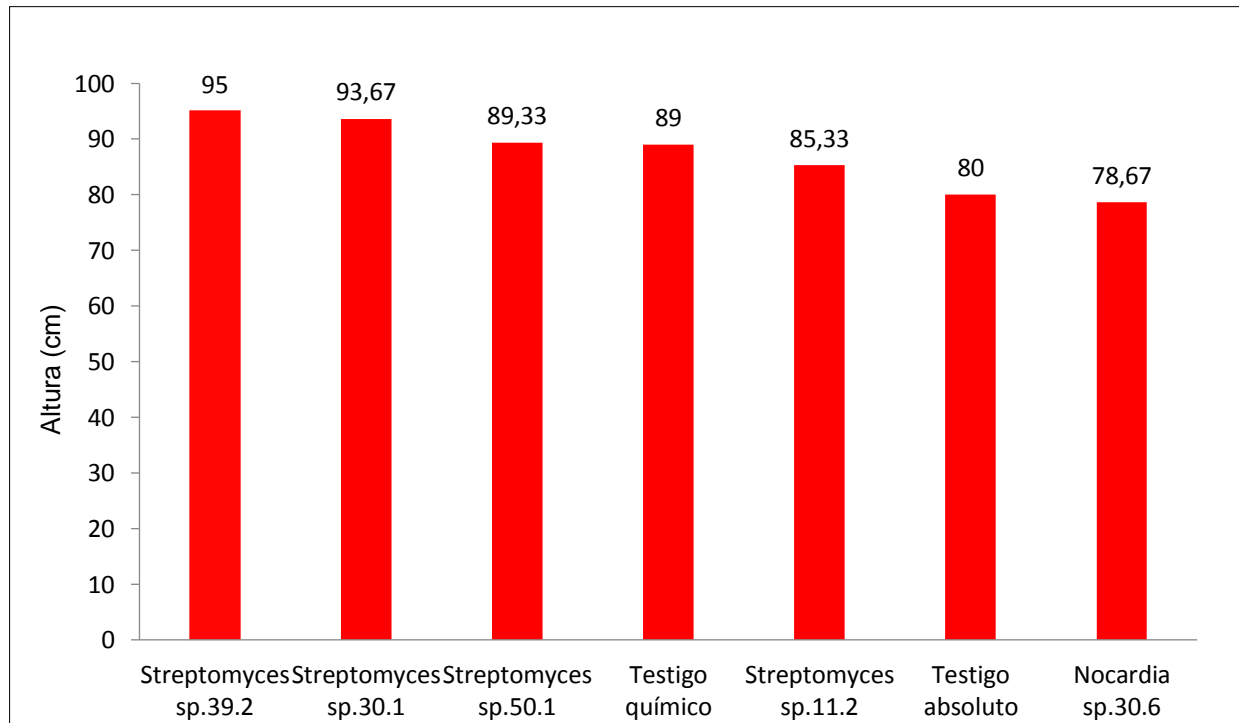
**Figura 30.** Plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. 60 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017, a) Testigo químico, b) Testigo absoluto, c) *Streptomyces* sp.39.2.



**Figura 31.** Plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. 60 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017, a) Testigo químico, b) Testigo absoluto, c) *Streptomyces* sp.11.2.



**Figura 32.** Altura (cm) de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.



**Figura 33.** Altura (cm) de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill., 75 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.

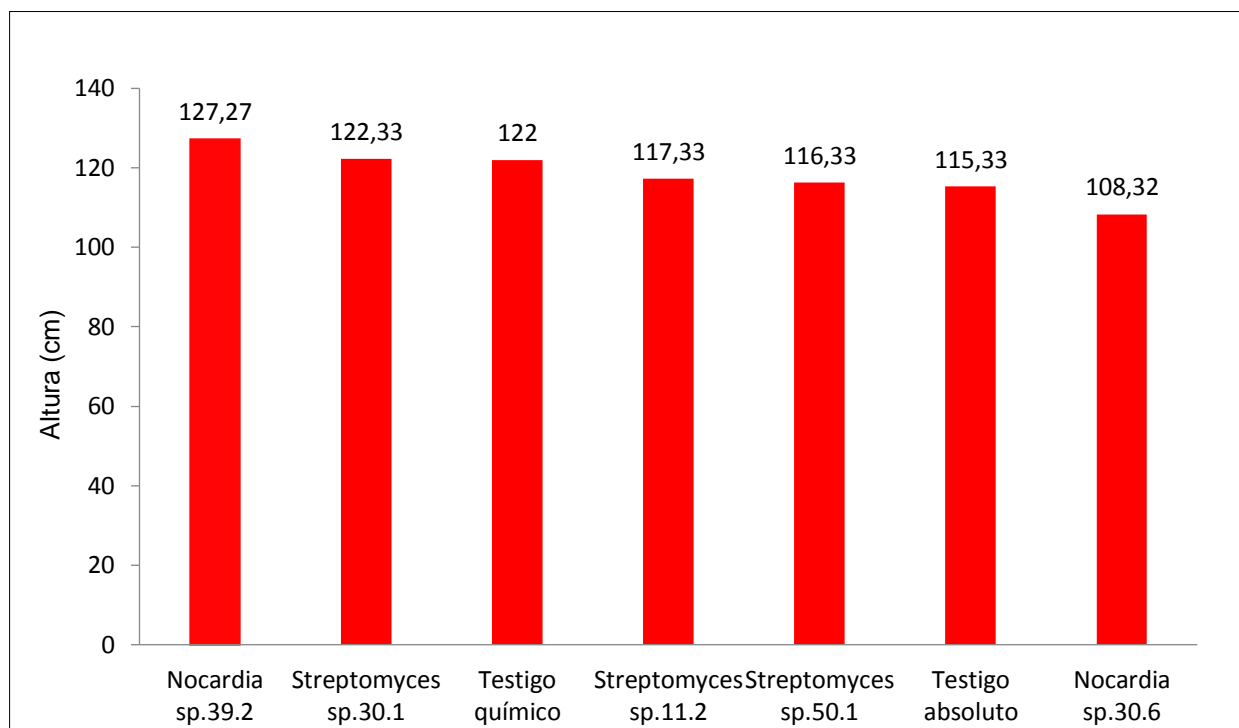


**Figura 34.** Plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. 90 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017, a) Testigo químico, b) Testigo absoluto, c) *Streptomyces* sp.30.1.



**Figura 35.** Plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. 90 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017, a) Testigo químico, b) Testigo absoluto, c) *Streptomyces* sp.11.2.





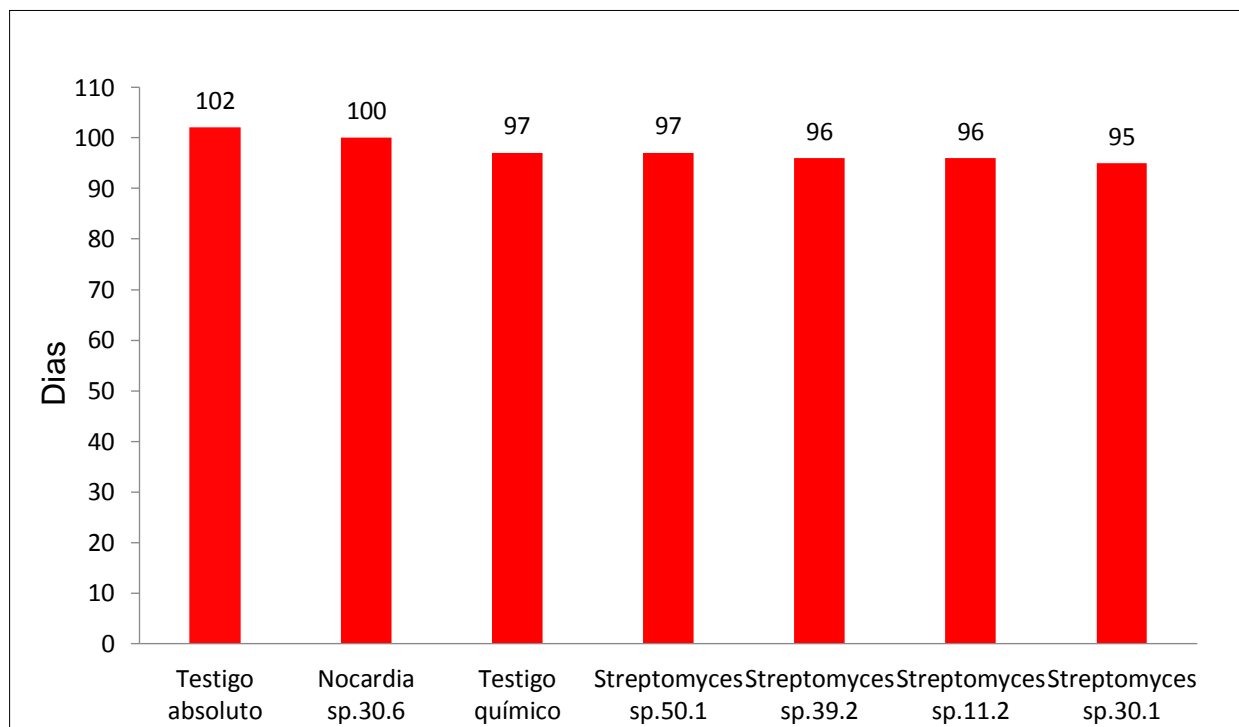
**Figura 36.** Altura (cm) de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill., 90 días después de la inoculación de Actinobacterias seleccionadas, 2017.



**Figura 37.** Flores de *Lycopersicon esculentum* Mill.



**Figura 38.** Plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. en floración, 2017.



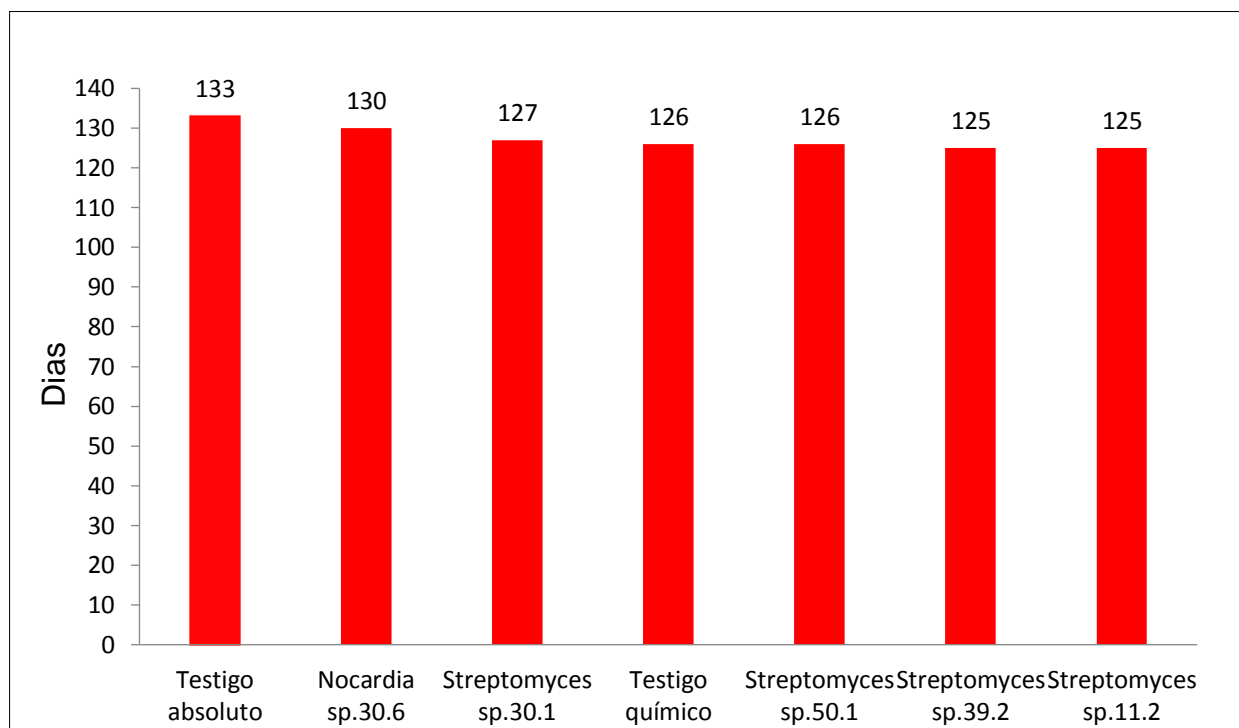
**Figura 39.** Días al 50% de la floración en *Lycopersicon esculentum* Mill., inoculado con Actinobacterias a la siembra y al trasplante.

**Tabla 11.** Índices de efectividad (%) al 50% de la floración en *Lycopersicon esculentum* Mill., por Actinobacterias inoculadas a la siembra y trasplante

Tratamientos	Tiempo requerido para la floración	
	Días	IE (%)
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	96	5,88
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	97	4,90
<i>Nocardia</i> sp.30.6	100	0,04
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	95	6,86
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	96	5,88
Testigo químico	97	4,90
Testigo absoluto	102	-



**Figura 40.** Fructificación de *Lycopersicon esculentum* Mill.



**Figura 41.** Días al 50% de fructificación en *Lycopersicon esculentum* Mill., inoculado con Actinobacterias a la siembra y trasplante.

**Tabla 12.** Índices de efectividad (%) al 50% de fructificación en *Lycopersicon esculentum* Mill., por Actinobacterias inoculadas a la siembra y trasplante

Tratamientos	Tiempo requerido para la fructificación	
	Días	IE (%)
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	125	6,02
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	126	5,26
<i>Nocardia</i> sp.30.6	130	2,26
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	127	4,51
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	125	6,02
Testigo químico	126	5,26
Testigo absoluto	133	-



El 80% (4) de cultivos de Actinobacterias aumentaron el número y peso de frutos comerciales de tomate (Figura 42), siendo de 61 frutos por planta con *Nocardia* sp.30.6 y 74 frutos por planta con *Streptomyces* sp.50.1 (Tabla 13), valores correspondientes a índices de efectividad de 1,67 y 23,33% (Tabla 14). La prueba F del análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los mayores valores se alcanzaron con *Streptomyces* spp.50.1 y 11.2, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 15). El peso de los frutos fue de 3,420 y 4,530kg con *Nocardia* sp.30.6 y *Streptomyces* sp.50.1 respectivamente (Tabla 13), valores correspondientes a índices de efectividad de 1,18 y 34,02% (Tabla 14). La prueba F de análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los mayores valores se alcanzaron con *Streptomyces* spp.50.1 y 11.2, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 15)



**Figura 42.** Frutos comerciales de *Lycopersicon esculentum* Mill.

**Tabla 13.** Número y peso de frutos de plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. Inoculadas con Actinobacterias a la siembra y transplante

Tratamientos	Frutos	
	Número (Nº)	Peso (kg)
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	63	3,594
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	74	4,530
<i>Nocardia</i> sp.30.6	61	3,420
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	58	3,250
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	72	4,305
Testigo químico	69	4,020
Testigo absoluto	60	3,380

**Tabla 14.** Índices de efectividad (%) en el número y peso de frutos de *Lycopersicon esculentum* Mill por Actinobacterias a la siembra y trasplante

Tratamientos	IE (%)	
	Número	Peso
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	5,00	6,33
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	23,33	34,02
<i>Nocardia</i> sp.30.6	1,67	1,18
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	0	0
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	20,00	27,37
Testigo químico	15,00	18,93

**Tabla 15.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey del número y peso de frutos de *Lycopersicon esculentum* Mill. inoculado con Actinobacterias seleccionadas

Tratamientos	Frutos			
	Número	Sign.	Peso (kg)	Sign.
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	63	cd	3,594	de
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	74	a	4,530	a
<i>Nocardia</i> sp.30.6	61	de	3,420	def
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	58	f	3,250	f
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	72	a	4,305	a
Testigo químico	69	b	4,020	bc
Testigo absoluto	60	ef	3,380	ef

## V. DISCUSIÓN

Las rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas (PGPR) como las Actinobacterias estudiadas en la presente investigación son aquellas que mediante mecanismos directos e indirectos benefician el desarrollo vegetativo y reproductivo de los cultivos agrícolas; no obstante, el efecto de su inoculación no siempre es el esperado (López, 2013). El patrón no definido del efecto de las PGPR se asocia a metabolitos volátiles (Rico, 2009), alta concentración de auxinas (Camelo et al., 2011), variabilidad en la colonización, concentración de inóculo, competencia por nutrientes entre bacterias (García, 2012a), fase de crecimiento del inóculo bacteriano (López, 2013), tipo de suelo (Rico, 2009) y especificidad bacteria-planta (García, 2012a).

Las Actinobacterias previamente aisladas de la monocotiledónia espárrago (Sánchez, 2017), incrementaron el desarrollo de la dicotiledónia tomate, demostrándose que la especificidad bacteria-planta no es determinante en el éxito de la inoculación de estas bacterias, coincidiendo con García (2012b) y Germán (2015).

La utilización biotecnológica de las PGPR requiere investigar previamente su fisiología, para seleccionar aquellas cepas con mayor potencial (Carcaño, Ferrera, Pérez, Molina y Bashan, 2006). Por esta razón, se investigó la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato y producción de indoles, características consideradas por Infante y Zurita (2013), López (2013) y Arrunátegui (2015) como indicadores del potencial *in vitro* de las Actinobacterias para promover el crecimiento de plantas.

Las Actinobacterias fijaron nitrógeno en condiciones de laboratorio, detectándose amonio, característica demostrada previamente por Franco et al., 2010 (*Streptomyces*, *Nocardia*) e Infante y Zurita, 2013 (*Micromonospora*). La concentración máxima de amonio cuantificado se encontró en rango 1,4-34,0 ppm reportado para Actinobacterias aisladas de tomate (Núñez y Vásquez, 2013), maíz (Arrunátegui, 2015) y espárrago (Sánchez, 2017).

La solubilización de fosfato por las Actinobacterias es una característica que también fue reportada anteriormente en aislados de plátano (Otero, 2011), papa (Rico, 2009), maíz (Cabrera y Paredes, 2013), piñón blanco (Gómez y Yarlaqué, 2013) y malezas (Infante y Zurita, 2013). Asimismo, la producción de indoles *in vitro* fue demostrada previamente por Rico (2009) y López (2013). La máxima concentración de indoles de 58,91 ppm se encontró en el rango 13-150 ppm registrado con Actinobacterias aisladas de papa (Rico, 2009), trébol blanco (Franco, Quintana, Duque, Suarez, Rodríguez & Barea, 2010), plátano (Otero, 2011) y banano (Gangwar, Khushboo & Saini, 2014).

Las Actinobacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfato y productoras de indoles incrementaron el desarrollo vegetativo de tomate, coincidiendo con Núñez y Vásquez (2013) y Salazar y Ordóñez (2013). De igual manera, Actinobacterias con estas capacidades afectaron posteriormente cultivos de trébol blanco (Gómez et al., 2011), papa (Stechmann, 2011), haba (Hewedy, 2011), lechuga (Salazar y Ordóñez, 2013), maíz (Julón, 2014), y espárrago (Sánchez, 2017). La promoción de crecimiento en plantas por las Actinobacterias está asociada a mecanismos directos como la fijación de nitrógeno (Salazar y Ordóñez, 2013), solubilización de fosfatos (Núñez y Vásquez, 2013), producción de indoles (Otero, 2011) y también a mecanismos indirectos o de control biológico (Srividya et al., 2012).

El efecto promotor de las Actinobacterias en el cultivo de tomate se evidenció con el incremento en la germinación, altura, longitud de raíces y rendimiento, así como también en la disminución de los días requeridos para la floración de las plantas. En otras investigaciones se ha reportado incremento en la germinación de semillas de lechuga (Salazar y Ordóñez, 2013), número de raíces

en maíz (Postolaky, Baltsat, Burtseva & Maslobrod, 2012), altura de plantas y longitud de raíces en chili (Suwan et al., 2012), aérea foliar y longitud de raíces en piñón blanco (Qin, Miao, Feng, Wang, Zhu, Xing et al., 2015), biomasa foliar y radicular en trébol blanco (Gómez et al., 2011) y número de flores y vainas en haba (Hewedy, 2011), y rendimiento en papa (Rico, 2009) y maíz (Paredes, 2014).

La longitud de la raíz de las plantas de tomate fue incrementada hasta 43,84% por *Streptomyces* sp.50.1, bacteria a la que correspondió la máxima concentración de indoles. Según Loredó, López y Espinoza (2004) el efecto positivo de las PGPR siempre está relacionado con el incremento de la longitud de las raíces laterales, así como el número y longitud de los pelos radicales, cambios que se asocian con la síntesis de reguladores del crecimiento como auxinas, citoquinas y giberelinas.

El incremento en el rendimiento del tomate por efecto de las Actinobacterias fue reportado previamente por Anitha & Rabeeth (2009). Según Matínez et al. (1999), mencionado por Carrera (2012), incrementos de por lo menos 20% en el rendimiento de los cultivos, se consideran comercialmente muy valiosos para la agricultura, siempre y cuando estos resultados sean consistentes. En este contexto, *Streptomyces* spp.50.1 y 11.2 con incrementos de 34,02 y 27,37%, respectivamente, tienen potencial para promover el crecimiento y aumentar el rendimiento del cultivo de tomate.

## VI. CONCLUSIONES

- ✓ Las Actinobacterias fijaron *in vitro* nitrógeno (7,744 a 31,513ppm de amonio), solubilizaron fosfato tricálcico (0,275 a 4,725ppm de fósforo soluble) y produjeron indoles (30,022 a 58,911ppm).
- ✓ Los 15 cultivos de Actinobacterias previamente aisladas de espárrago, incrementaron el desarrollo vegetativo de tomate, alcanzándose índices de efectividad de 4,72 a 101,09% en la altura y 1,74 a 43,84% en la longitud de raíces.
- ✓ Los cultivos de Actinobacterias seleccionados fueron los cinco que alcanzaron los mayores valores en la altura, correspondientes a *Streptomyces* spp.11.2, 30.1, 39.2, 50,1 y *Nocardia* sp.30.6.
- ✓ Las Actinobacterias seleccionadas incrementaron el desarrollo del cultivo de tomate, destacando *Streptomyces* spp.11.2 y 50.1 con índices de efectividad de 1,73 a 56,05% en la altura, 20 a 23% en el número de frutos y 27,37 a 34,02% en el peso de frutos. .

## VII. RECOMENDACIONES

- ✓ Identificar a nivel molecular *Streptomyces* spp.11.2 y 50.1.
- ✓ Determinar el efecto de *Streptomyces* spp.11.2 y 50.1 en el desarrollo de tomate, en condiciones de campo, con y sin aplicacion de fertilizante químico.
- ✓ Investigar sustratos orgánicos de bajo costo para el incremento masivo de *Streptomyces* spp.11.2 y 50.1.
- ✓ Investigar el efecto de *Streptomyces* spp.11.2 y 50.1 en el desarrollo de otros cultivos agrícolas en condiciones de invernadero y campo.

.



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, S. y Deza, C. (2014) *Efecto de rizobacterias nativas promotoras del crecimiento de plantas en la emergencia y la supervivencia de Jatropha curcas L. "piñón blanco", en Lambayeque*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Aguado, S. (Ed.). (2012). *Introducción al Uso y Manejo de los Biofertilizantes en la Agricultura*. México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, INIFAP/Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, SAGARPA.
- Aldana, P. y Sandoval, L. (2013). *Caracterización de actinomicetos aislados de la rizósfera de malezas en Mochumí, Lambayeque y su potencial como productores de triacilglicerol*, 2012. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Alvarado, P. y Valderrama, M. (2014). *Caracterización de los géneros Burkholderia y Pseudomonas solubilizadoras de fosfato aisladas de Zea mays L. en el distrito de Reque en Lambayeque, marzo-mayo, 2014*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Anitha, A. & Rabeeth, M. (2009). Control of *Fusarium* wilt of tomato by bioformulation of *Streptomyces griseus* in green house conditions. *African Journal of Basic & Applied Sciences* 1(1-2), 9-14.
- Arrunátegui, J. (2015). *Streptomyces spp. aisladas de la rizósfera de Zea mays L, "maíz" y de malezas como potenciales promotoras del crecimiento de plantas, Lambayeque*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Balemi, T., Pal, N & Saxena, K. (2007) Response of onion (*Allium cepa* L.) to combined application of biological and chemical nitrogenous fertilizers. *Acta Agriculturae Slovenica*, 89 (1), 107-114.

- Barreto, T., da Silva, A., Soares, A. y de Souza, J. (2008). Las densidades de población y diversidad genética de los actinomicetos asociados a la rizósfera de *Theobroma cacao*. *Brasileño Journal of Microbiology*, 39(3), 23-27.
- Bhattacharyya, P. & Jha, D. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal Microbiology and Biotechnology* 28, 1327-1350.
- Cabrera, M. y Paredes. (2013). *Streptomyces spp. aisladas de rizósfera de Zea mays L. "maíz" y su potencial como promotoras del crecimiento de plantas en Lambayeque, 2012*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Cadena, S. y Martínez, B. (2011). *Caracterización de cepas de Pseudomonas spp. y su efecto en la germinación y emergencia de Zea mays L. "maíz" en Lambayeque* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Camelo, M., Vera, S. y Bonilla, R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Revista Corpoíca - Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12 (2), 159-166.
- Carcaño, M., Ferrera, R., Pérez, J., Molina, J. y Bashan, Y. (2006). Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle. *Terra Latinoamericana*, 24 (4), 493-502.
- Carreño, C. (2009). *Efecto de la inoculación de bacterias nativas solubilizadoras de fósforo en el desarrollo y rendimiento de tres cultivos agrícolas en Mochumí, Lambayeque, Perú*. (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.
- Carrera, A. (2012). *Caracterización bioquímica, molecular y funcional del banco de cepas de Azospirillum spp. del INIAP aisladas de la rizósfera del cultivo de maíz (Zea mayz L.) de la sierra ecuatoriana*. (Tesis de Pregrado). Escuela Plitécnica del Ejército, Sangolqui, Ecuador.
- Castellanos, D., Cubillos, R. y Argüello, H. (2009). Selección de microorganismos promotores de crecimiento vegetal (ácido indol acético) a partir de muestras de suelo rizosférico, como primera etapa en el desarrollo de un biofertilizante. *Revista Brasileña de Agroecología*, 4(2), 1720-1723

- Córdova, L. (2016). *Efecto de Azospirillum spp. nativas en el desarrollo vegetativo de Zea mays L. "maíz" en invernadero*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.
- Da Silva, C., Fermino, A. & da Silva, M. (2008). Characterization of streptomycetes with potential to promote plant growth and biocontrol. *Scientia Agricola*, 65(1), 50-55.
- Delgado J. y Suyón, L. (2017). *Bacterias endófitas y rizosfericas fijadoras de nitrógeno aisladas de Asparagus officinalis L. en Virú, región La Libertad y su potencial como promotoras de crecimiento en plantas*. (Tesis de Pregrado). Universidad Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Delgado, Y., Cupull, R., Pérez, C., Sánchez, A. y Vélchez, M. (2003). Efecto de *Azotobacter* spp. en la estimulación de germinación y el desarrollo de posturas de *Coffea arabica* L. *Centro Agrícola*, 30(1), 26-32.
- Fassio, A., Carsiquiry, A., Tojo, C. y Romero, R. (1998). *Maíz: Aspectos sobre Fisiología*. Montevideo: Unidad de Difusión e Información Tecnológica del Instituto Nacional de Investigación Agraria, INIA.
- Franco, M. (2008). *Evaluación de caracteres PGPR en actinomicetos e interacciones de estas rizobacterias con hongos formadores de micorrizas*. (Tesis de Doctorado). Universidad de Granada, España.
- Franco, M. (2009). Utilización de los actinomicetos en procesos de biofertilización. *Revista Peruana de Biología*, 16(2), 239-242.
- Franco, M., Quintana, A., Duque, C., Suarez, C., Rodriguez, M. & Barea, J. (2010). Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. *Applied Soil Ecology* 45, 209-217.
- Fuentes, J. (2001). *Iniciación a la Botánica*. España: Ediciones Mundi-Prensa
- Gangwar, M., Khushboo, K., & Saini, P. (2014). Diversity of endophytic actinomycetes in *Musa acuminata* and their plant growth promoting activity. *Journal of Biological and Chemical Sciences*, 1(1), 13-23.
- García, M. (2012a). *Efecto de inoculación con bacterias diazotróficas de vida libre endófitas sobre el crecimiento de Lycopersicon esculentum "Tomate"*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.
- García, M. (2012b). *Raphanus sativus L. "rabanito" como modelo para evaluar la capacidad fijadora de nitrógeno de bacterias diazotróficas endófitas*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.

- García, F., Muñoz, H., Carreño, C. y Mendoza, G. (2010). *Caracterización de cepas de Azospirillum spp. y su efecto en el desarrollo de Oryza sativa L. "arroz" en Lambayeque*. *Scientia Agropecuaria*, 1, 107-116
- García, J., Mendoza, A. y Mayek, N. (2012). Efecto de *Azospirillum brasilense* en el rendimiento del maíz en el norte de Tamaulipas, México. *Universidad y Ciencia trópico Húmedo*, 28 (1), 79-84.
- Germán, J. (2015). *Efecto de las concentraciones de Azotobacter sp. aislado de rizósfera de suelos de Saccharum officinarum sobre el crecimiento de Lycopersicum esculentum "tomate"*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.
- Gómez, R., Bello, D., Prada, L., Rodríguez, M., Gómez, L. y Franco, M. (2011). Actinomicetos mineralizadores de fosfato involucrados en la interacción radical de *Glomus* sp.-trébol blanco. *Agronomía Mesoamericana*, 22(2), 317-327.
- Gómez, C. y Yarlaqué, D. (2013). *Caracterización de Streptomyces spp. asociados a la rizósfera de Jatropha curcas L., piñón blanco, en Lambayeque y su potencial como promotoras del crecimiento de plantas, 2012*. (Tesis de Pregado). Universidad Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- González, M., Martínez, R., Corrales, I., Pérez, D., Gandarilla, J., Alonso, R., Curbelo, R. y Méndez, V. (2003). Efectividad de un bioestimulador con la calidad de las hortalizas como sostenibilidad de las poblaciones en la agricultura urbana. *Centro Agrícola*, 4 (30), 10-15.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación*. (5ta ed.). México: Mc Graw, Hill Interamericana Editores S.A.
- Hernández, A., Heydrich, M., Velásquez, M. y Hernández, A. (2006). Perspectivas del empleo de rizobacterias como agentes de control biológico en cultivos de importancia económica. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24 (1), 42-49.
- Hewedy, M. (2011). Associative effect of the rhizobacteria *Streptomyces chibaensis* and commercial biofertilizers on the growth, yield and nutritional value of *Vicia faba*. *Journal of American Science*, 7(5), 552-559.
- Infante, S. y Zurita, D. (2013). *Potencial como promotoras del crecimiento de plantas de los actinomicetos aislados de la rizósfera de malezas asociadas al cultivo de Zea mays L. "maíz", Lambayeque, 2013*. (Tesis de Pregrado). Universidad Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.

- Julón, W. (2014). *Desarrollo vegetativo de Zea mays L. "maíz" amarillo duro por efecto de actinomicetos inoculados en la siembra y emergencia en invernadero, 2013*. (Tesis de Pregrado). Universidad Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Lara, C., Villalba, M. y Oviedo, L. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, IX (2), 6-14.
- León, J., Liza, L., Soto, I., Cuadra, D., Patiño, L. y Zerpa, R. (2007). Actinomicetes bioactivos de sedimento marino de la costa central del Perú. *Revista Peruana de Biología*, 14(2), 259-270.
- Leiva, S., Yañez, M., Zaror, L., Rodríguez, H. y García, H. (2004). Actividad antimicrobiana de actinomicetes aislados desde ambientes acuáticos del sur de Chile. *Revista Médica de Chile*, 132, 151-159.
- López, N. (2013). *Efecto de aislados de los generos Streptomyces y Bacillus como promotores de crecimiento vegetal en frijol (Phaseolus vulgaris L.)*. (Tesis de Maestría) Instituto Politécnico Nacional, Sinaloa, México.
- Loredo, C., López, L. y Espinosa, D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*, 22 (2), 225-239.
- Lozada, L. y Rivas, C. (2010). *Evaluación del efecto de la inoculación de Azotobacter spp. en ají dulce (Capsicum frutescens)*. (Tesis de Pregrado). Universidad de los Andes, Trujillo, Argentina.
- Mantilla, M. (2007). *Evaluación de la acción de un bioinoculante sobre un cultivo de crisantemo (Chrysanthemum morifolium var. Yoko ono) en periodo de enraizamiento*. (Tesis Pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Márquez, M., Martínez, M., y Franco, M. (2002). Aislamiento de *Trichoderma* sp. y Actinomicetes a partir de suelos de *Dianthus caryophyllus* "clavel" y evaluación de su capacidad antagónica *in vitro* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. Dianthi. *Agronomía Colombiana*, 19 (1-2), 81-87
- Mena, H., Cruz, A., Paredes, O., Gómez, M & Portugal, V. (2009). Fruit texture related changes and enhanced shelf-life through tomato root inoculation with *Bacillus subtilis* BEB-13BS. *Agrociencia*, 43 (6), 559-567.
- Moya, R. (2011). *Caracterización de la lacasa de Streptomyces cyaneus CECT 3335 y aproximación al estudio de su potencial oxidativo y función biológica*. (Tesis de Doctorado). Universidad de Alcalá, España.

- Nezarat, S. & Gholami, A. (2009). Screening Plant Growth Promoting Rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pakistan Journal of Biological Science*, 12 (1), 26-32
- Nicolalde, A. y Quintana, D. (2010). *Utilización de bacterias fijadoras de nitrógeno (Azotobacter) y solubilizadoras de fósforo en el cultivo de brócoli (Brassica oleraceae var. Legacy) en Otavalo*. (Tesis de Pregado). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Núñez, A. y Vásquez, Y. (2013). *Streptomyces spp. aislados de la rizósfera de Lycopersicon esculentum Mill. "tomate" y su potencial como promotoras de crecimiento de plantas en Lambayeque, 2012*. (Tesis de Pregrado). Universidad Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Otero, V. (2011). *Aislamiento, selección e identificación de actinomicetos, bacterias fotosintéticas no sulfurosas y bacterias ácido lácticas, a partir de suelos asociados al cultivo de plátano en la Costa Atlántica Colombiana*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogota, Colombia.
- Paredes, (2014). *Efecto de la aplicación de Bacillus y Streptomyces spp. nativas en el desarrollo vegetativo y rendimiento de Zea mays. L. "maíz" amarillo duro en Lambayeque*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Prieto, G., Prada, L., Cuervo, C., y Franco, M. (2015) Evaluación de la producción de ácidos orgánicos por *Streptomyces* spp. y solubilización de tres fuentes de fósforo por la cepa T3A. *Revista Colombiana de Biotecnología XVII (1)*, 111-121.
- Postolaky, O., Baltsat, K., Burtseva, S., & Maslobrod. (2012). Effect of Streptomyces Metabolites on Some Physiological Parameters of Maize Seeds. *Bulletin of University of Agricultura Sciencies and Veterinary Medicine Cluj-Napoca*. Agriculture 69.
- Quin, S., Miao, Q., Feng, W., Wang, Y., Zhu, X., Xing, K. et al. (2015). Biodiversity and plant growth promoting traits of cultivable endophytic actinobacteria associated with *Jatropha curcas* L. growing in Panxi dry-hot valley soil. *Applied Soil Ecology*, 93, 47-55.
- Rico, M. (2009). *Capacidad promotora de crecimiento vegetal por bacterias del género Azotobacter y Actinomicetos aislados de cultivos de Solanum tuberosum Linnaeus, 1753 (papa) cultivados en zonas altoandinas del Perú*. (Tesis de Pregrado) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Rodier, J. y Rodi, L. (2005). *Análisis de Aguas*. España: Ediciones Omega.

- Rodríguez, C. (2013). *Evaluación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en tomate (Solanum lycopersicum) variedad Santa Clara, aislados de residuos lignocelulósicos de higuera (Ricinus communis)*. (Tesis de Pregrado). Universidad Católica de Manizales, Caldas, Colombia.
- Salazar, A. y Ordóñez, C. (2013). *Aislamiento e identificación de actinomicetos fijadores de nitrógeno en suelo del Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira*, (Tesis Pregrado). Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.
- Sánchez, B. (2017). *Actinobacterias aisladas de rizoplasma y rizósfera de Asparagus officinalis L. y su potencial como promotoras de crecimiento en plantas*. (Tesis de Pregrado). Universidad Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Santillana, N. (2006). Producción de biofertilizantes utilizando *Pseudomonas* sp. *Ecología Aplicada*, 5(1-2), 87-91.
- Sarajuohi, M., Ardakani, M., Nurmohammadi, G., Kashani, A., Rejali, F. & Mafakheri, S. (2012). Response of yield and yield components of maize (*Zea mays* L.) to different biofertilizers and chemical fertilizers. *American Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 12(3), 315 – 320.
- Soplopuc, L. y Navarro, C. (2005). *Efecto de cinco fuentes y dosis de abono orgánico sobre el rendimiento y calidad de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) en Lambayeque*. (Tesis de Pregado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Soplin, J., Rengifo, A. y Chumbe, J. (1993). Análisis del crecimiento en *Zea mays* L. y *Arachis hypogaea* L. *Folia Amazónica*, 5 (1-2), 171-189.
- Srividya, S., Adarshana, T., Deepika, B., Kajingailu, G. & Nilanjan, D. (2012). *Streptomyces* sp. 9p as effective biocontrol against Chilli soilborne fungal phytopathogens. *European Journal of Experimental Biology*, 2(1), 163-173.
- Stechmann, L. (2011). *Crecimiento de Bacillus spp., Pseudomonas putida y Streptomyces spp., en sustratos con diferentes contenidos de materia orgánica y pH y su efecto en Solanum tuberosum L. "papa" en invernadero*. (Tesis de Pregado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Suwan, N., To-anun, C., Soyton, K. & Nalumpang, S. (2012). Evaluation of *Streptomyces*- biofungicide to control chili anthracnose in pot experiment. *Journal of Agricultural Technology*, 8(5), 1663-1676.

Vásquez, A., Díaz, N., Vásquez, O. y Vásquez, W. (2012). *Metodología de la Investigación Científica*. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.



## **ANEXOS**

## ANEXO 1

### Procedimiento para elaborar la curva de calibración para cuantificar el ion amonio

#### a. Reactivos (en Lara, Villalba y Oviedo, 2007; Cadena y Martínez, 2011)

- **Cloruro de potasio 2M**

Cloruro de potasio	149,12g
Agua destilada	1000mL

- **Solución alcohólica de fenol 10%**

Fenol concentrado	10mL
Alcohol 97°	90mL

- **Nitroprusiato de sodio 0,5%**

Nitroprusiato de sodio	0,5g
Agua destilada	100mL

- **Solución oxidante**

Citrato de sodio	20,0g
Hidróxido de sodio	1,0g
Hipoclorito de sodio 5% (lejía comercial)	2mL
Agua destilada	100mL

#### b. Método colorimétrico de Berthelot para cuantificar el nitrógeno en amonio (en Lara et al., 2007)

##### b.1 Fundamento del método colorimétrico de Berthelot (fenolhipoclorito)

Se basa en la formación de un color azul intenso de indofenol, que resulta de la reacción del ión amonio ( $\text{NH}_4$ ) con los compuestos fenólicos, en presencia de un agente oxidante como el hipoclorito de sodio u o-fenol y un catalizador, principalmente nitroprusiato de sodio o de potasio. El mecanismo de la reacción depende de la luz presente, la temperatura ambiente, catalizadores y pH alcalino. Cuando se utiliza fenol o sodio la reacción puede ser representada de la siguiente manera:



##### b.2 Preparación de diluciones a partir de una solución madre de $\text{NH}_4\text{Cl}$

Para obtener la curva patrón se prepara una solución madre de 100ppm de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , para lo cual se pesa 0,1g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y se disuelve en 1L de agua bidestilada. Posteriormente, a partir de la solución madre se efectúan las siguientes diluciones:

N° de tubo	Solución patrón [mL]	H <sub>2</sub> O bidestilada [mL]	NH <sub>4</sub> Cl (Ug/mL = ppm) NH <sub>4</sub> Cl [μg /mL= ppm]
1	0,0	10,0	0
2	0,2	9,8	2
3	0,4	9,6	4
4	0,6	9,4	6
5	0,8	9,2	8
6	1,0	9,0	10
7	1,5	8,5	15
8	2,0	8,0	20

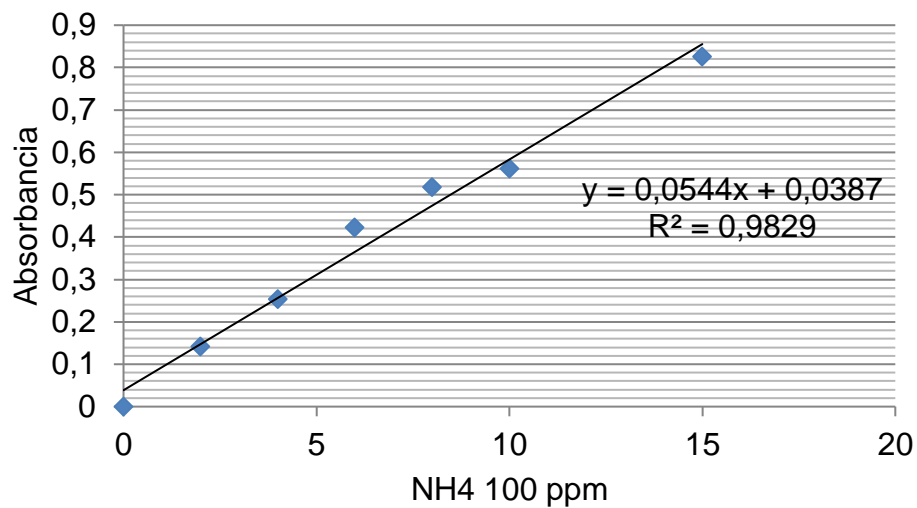
### b.3 Procedimiento para la cuantificación de amonio por colorimetría

Obtenidas las diluciones, agregar a cada tubo 0,4mL de solución alcohólica de fenol al 10%; 0,4mL de nitroprusiato de sodio al 0,5% y 1mL de solución oxidante, luego agitar para mezclar y dejar en reposo durante 1 hora. Observar una coloración que varía del verde azul al azul intenso según la concentración de amonio. Leer la absorbancia de cada dilución en el espectrofotómetro a 632,9nm.

Una vez obtenida la absorbancia de todas las concentraciones de amonio, corregir los valores y mediante regresión lineal con el programa Microsoft Excel 2010, obtener la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

N° tubo	NH <sub>4</sub> 100 (ppm)	Absorbancia	Absorbancia corregida
01	0	0,058	0,000
02	2	0,199	0,141
03	4	0,311	0,253
04	6	0,480	0,422
05	8	0,576	0,518
06	10	0,619	0,561
07	15	0,884	0,826

Obtenida la absorbancia de las siete concentraciones de amonio, introducir los datos en el programa Microsoft Office Excel 2007 y construir la curva patrón de calibración:



En la ecuación obtenida:

$$y = 0,0544x + 0,0387$$

Donde:

y: representa la absorbancia captada (variable dependiente).

x: cantidad de amonio en ppm (variable independiente).

Despejar "x" para obtener la cantidad de amonio (ppm) fijado por cada bacteria nativa.

$$x = \frac{y - 0,0387}{0,0544}$$

## ANEXO 2

### Cuantificación de fósforo solubilizado *in vitro*

#### a. Reactivos (en Rodier y Rodi, 2005)

- **Solución de ácido sulfúrico 5N**

Ácido sulfúrico (d = 1,84)	14 mL
Agua destilada hasta enrase	100 mL
- **Solución de molibdato amónico 4 %** 20 mL
- **Solución de ácido ascórbico**

Ácido ascórbico	1,76 mL
Agua destilada hasta enrase	100 mL
- **Solución de amético (Preparar al momento del uso)**

Tartrato doble de antimonio y potasio	0,0274 g
Agua destilada hasta enrase	100 mL
- **Reactivo para determinación de ortofosfatos**

Ácido sulfúrico 5 N	40 mL
Solución de Molibdato amónico	12 mL
Solución de ácido ascórbico	24 mL
Solución de emético	4 mL
- **Solución madre de 0,2 mgL<sup>-1</sup> de fósforo**

Fosfato monopotásico previamente desecado en estufa a 100 °C	877 g
Agua destilada hasta enrase	100 mL
- **Solución hija de 2mgL<sup>-1</sup> de fósforo**

Diluir 1mL de solución madre en 99mL de agua destilada (1/100)

#### b. Método colorimétrico del Molibdato para cuantificar fósforo soluble ( en Rodier y Rodi, 2005)

##### b.1. Fundamento

En medio ácido y en presencia de molibdato amónico, los ortofosfatos forman un complejo fosfomolibdico que, reducido por el ácido ascórbico, desarrolla una coloración azul susceptible de una determinación colorimétrica y cuya

aparición se acelera utilizando el catalizador emético, tartrato doble de antimonio y potasio.

### **b.2. Limpieza de los recipientes de vidrio**

Para la limpieza del material de vidrio no utilizar detergentes que contengan fosfato. Lavados con ácido clorhídrico diluido y enjuagados cuidadosamente con agua destilada.

### **b.3. Preparación de la curva de calibración**

Colocar en una serie de matraces aforados de 25 mL:

<b>Número de matraces</b>	<b>T</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>
Solución salina de fósforo de 2 mgL <sup>-1</sup> (mL)	0	1	2	5
Agua bidestilada (mL)	20	19	18	15
Reactivo indicador (mL)	4	4	4	4
Agua destilada hasta enrase (mL)	25	25	25	25
Correspondencia de fósforo en mgL <sup>-1</sup>	0	0,1	0,2	0,5

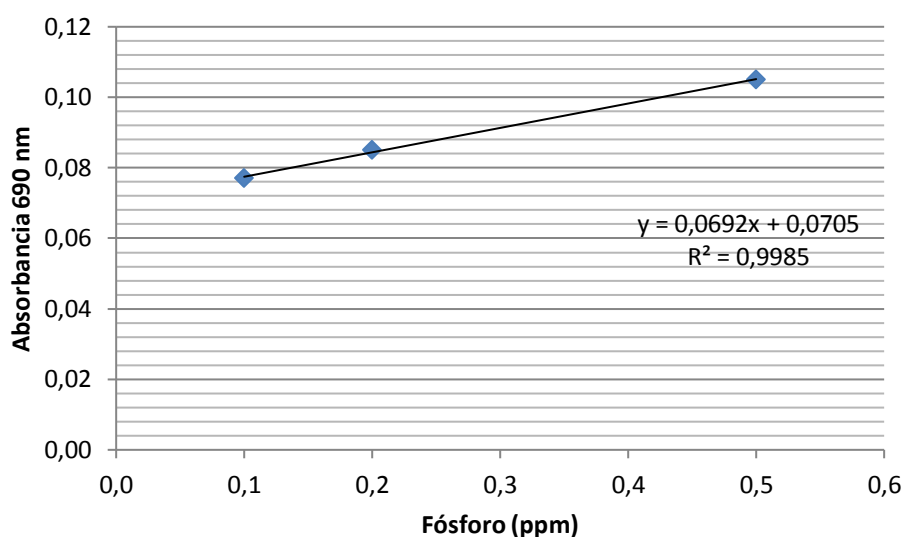
Esperar 20 minutos y efectuar las lecturas en el espectrofotómetro a la longitud de onda de 690nm en cubetas de 10cm. Construir la curva de calibración. Los datos de la absorbancia corregida se analizan mediante regresión lineal con el programa Microsoft Excel 2007 para obtener la ecuación de la recta y el coeficiente ( $R^2$ ) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

### **b.4. Procedimiento para cuantificar fosfatos en la muestra**

Introducir 20mL de la muestra a analizar en un matraz aforado de 25mL. Añadir 4mL de reactivo indicador, completar el volumen a 25mL con agua destilada. Esperar 20 minutos y efectuar la lectura en el espectrofotómetro de luz visible con una longitud de onda de 690nm. Tener en cuenta el valor leído para el testigo. Obtener los resultados en la curva de calibración. Para una muestra de 20mL, la curva indica el contenido de fósforo expresado en miligramos por litro.

N° de tubo	Fósforo soluble (ppm)	Absorbancia
1	0,1	0,077
2	0,2	0,085
3	0,5	0,105

Una vez obtenida la absorbancia de las tres concentraciones de fosfato dicálcico, introducir los datos en el programa Microsoft Office Excel 2007 y construir la curva patrón de calibración:



En la ecuación obtenida:

$$y = 0,0692x + 0,071$$

Donde:

y: representa la absorbancia captada (variable dependiente)

x: cantidad de fósforo en ppm (variable independiente)

Despejar “x” para obtener la cantidad de fósforo (ppm) producido por cada bacteria nativa.

$$x = \frac{y - 0,071}{0,0692}$$

### ANEXO 3

#### Procedimiento para elaborar la curva de calibración para cuantificar indoles

##### a. Rectivos

- **Reactivo de Salkowski (en García et al. 2010)**

Componentes	g <sup>L</sup> <sup>-1</sup>
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado	150 mL
Agua destilada	250 mL
FeCl <sub>3</sub> 0,5M en Agua destilada	7,5 mL

Al momento de la preparación, verter el ácido sulfúrico concentrado en un balón con 250mL de agua destilada y simultáneamente enfriar con chorro de agua constante. Finalmente agregar el cloruro férrico al 0,5 M.

Utilizar 4mL del reactivo para 1mL de la muestra investigada.

##### b. Método colorimétrico de Salkowski para cuantificar indoles (en Mantilla, 2007)

###### b.1. Fundamento de la reacción de Salkowski

Mediante la reacción de Salkowski se detectan grupos indol presentes en el medio de cultivo y la concentración de indol es directamente proporcional a la intensidad de color rojo producido. A su vez, el cambio de color es el resultado de una reacción oxidativa con el ácido sulfúrico, donde por medio de una transaminación un grupo amino es sustituido por el cloro proveniente del FeCl<sub>3</sub>, originando un compuesto visible de color rosado a rojo en el caso del indolacético. Otras coloraciones indican la presencia de productos intermedios de la síntesis del ácido indolacético, que pueden ser generados a partir del triptófano.

###### b.2. Preparación de diluciones a partir de una solución madre de AIA

Para obtener una curva patrón de ácido indolacético, preparar una solución madre de 100ppm, para lo cual se pesan 10mg de ácido indolacético y se disuelven con unas gotas de NaOH en un matraz aforado a 100mL. A continuación, enrasar con agua bidestilada y agitar hasta homogenizar. Posteriormente se realizan las siguientes diluciones:



N° de tubo	Solución patrón (100 µgmL <sup>-1</sup> )	H <sub>2</sub> O bidestilada [µL]*	Concentración AIA (mgL <sup>-1</sup> )
1	0	1000	0
2	20	980	2
3	40	960	4
4	60	940	6
5	80	920	8
6	100	900	10
7	150	850	15
8	200	800	20
9	300	700	30
10	400	600	40
11	500	500	50
12	600	400	60

\*1000 µL = 1 mL

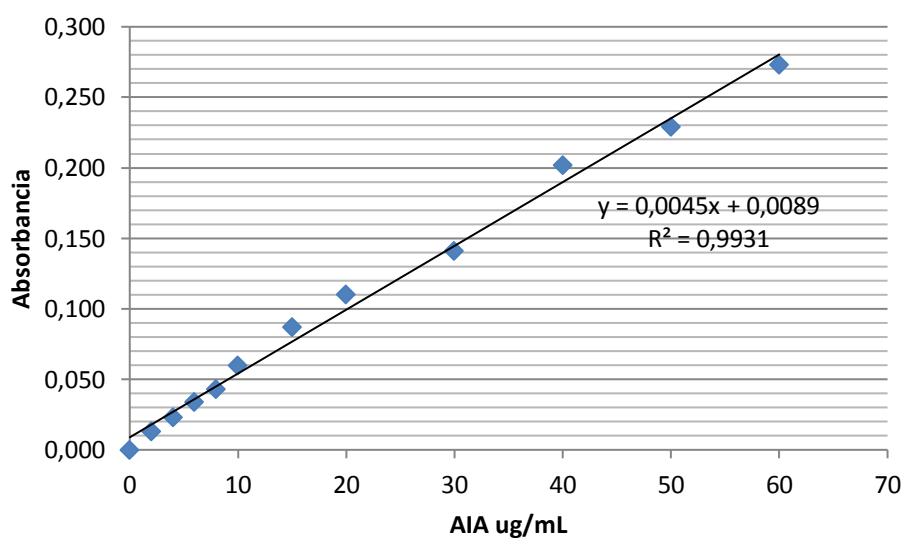
### **b.3. Procedimiento para la cuantificación de AIA por colorimetría**

Obtenidas las concentraciones parciales de AIA extraer de cada tubo 0,4mL de solución, verter en tubos de 13 x 75mm y agregar 1,6mL de reactivo de Salkowski (1:4). Dejar en reposo en oscuridad por 30 minutos. Observar la presencia de una coloración rojiza en los tubos. A continuación, leer la absorbancia de cada dilución en espectrofotómetro a 530nm.

Una vez obtenida la absorbancia en todas las concentraciones de ácido indolacético, corregir los valores y mediante regresión lineal en el programa Microsoft Excel 2007, obtener la ecuación de la recta y el coeficiente ( $R^2$ ) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

N° de tubo	AIA (µg/mL)	Absorbancia
01	0	0,000
02	2	0,013
03	4	0,023
04	6	0,034
05	8	0,043
06	10	0,060
07	15	0,087
08	20	0,110
09	30	0,141
10	40	0,202
11	50	0,229
12	60	0,273

Obtenida la absorbancia de las doce concentraciones de ácido indol acético, introducir los datos en el programa Microsoft Office Excel 2007 y y construir la curva patrón de calibración:



En la ecuación obtenida:

$$y = 0,0045x + 0,0089$$

Donde:

y: representa la absorbancia captada (variable dependiente)

x: ácido indol acético en ppm (variable independiente)

Despejar “x” para obtener la cantidad de ácido indol acético (ppm) producido por cada bacteria nativa.

$$x = \frac{y - 0,0089}{0,0045}$$

## ANEXO 4

### Temperaturas mínima, media y máxima durante el cultivo de *Lycopersicon esculentum* Mill. (Primer ensayo)

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
07/03/2017	23	24	25
08/03/2017	23	25	26
09/03/2017	24	26	31
10/03/2017	23	24	25
11/03/2017	21	25	27
12/03/2017	23	24	30
13/03/2017	23	24	26
14/03/2017	22	23	25
15/03/2017	23	27	28
16/03/2017	21	23	29
17/03/2017	22	23	25
18/03/2017	22	25	26
19/03/2017	21	23	31
20/03/2017	23	27	25
21/03/2017	22	26	29
22/03/2017	24	25	26
23/03/2017	22	24	29
24/03/2017	22	26	30
25/03/2017	21	23	25
26/03/2017	21	23	29
27/03/2017	22	23	25
28/03/2017	21	24	26
29/03/2017	24	25	28
30/03/2017	21	26	31
31/03/2017	23	25	29
01/04/2017	23	26	30
02/04/2017	22	25	30
03/04/2017	22	25	30
04/04/2017	20	24	30
05/04/2017	22	24	28
06/04/2017	21	24	30
07/04/2017	21	26	31
08/04/2017	23	25	30
09/04/2017	20	25	30
10/04/2017	23	25	30
11/04/2017	23	26	31
12/04/2017	22	25	30
13/04/2017	22	26	30
14/04/2017	21	27	31
15/04/2017	21	25	28
16/04/2017	21	25	30

## ANEXO 4

### Temperaturas mínima, media y máxima durante el cultivo de *Lycopersicon esculentum* Mill. (Segundo ensayo)

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
12/05/2017	21	25	30
13/05/2017	21	24	29
14/05/2017	19	24	27
15/05/2017	20	24	27
16/05/2017	20	25	28
17/05/2017	21	24	28
18/05/2017	20	24	26
19/05/2017	21	25	27
21/05/2017	20	25	27
22/05/2017	20	25	28
23/05/2017	20	25	27
24/05/2017	18	23	27
25/05/2017	19	23	25
26/05/2017	20	26	27
27/05/2017	20	24	26
28/05/2017	20	24	26
29/05/2017	19	24	26
30/05/2017	20	23	25
31/05/2017	20	23	25
01/06/2017	20	23	26
02/06/2017	19	24	26
03/06/2017	17	23	25
04/06/2017	18	23	25
05/06/2017	19	23	25
06/06/2017	19	24	27
07/06/2017	19	24	27
08/06/2017	16	23	26
09/06/2017	18	23	25
10/06/2017	19	23	25
11/06/2017	19	22	24
12/06/2017	18	23	25
13/06/2017	17	23	26
14/06/2017	18	23	25
15/06/2017	19	23	25
16/06/2017	19	22	24
17/06/2017	18	21	22
18/06/2017	19	21	22
19/06/2017	17	23	26
20/06/2017	19	23	26
21/06/2017	18	23	25
22/06/2017	19	21	24

Continuación...

<b>Fecha</b>	<b>Temperatura mínima (°C)</b>	<b>Temperatura media (°C)</b>	<b>Temperatura máxima (°C)</b>
23/06/2017	18	20	23
24/06/2017	18	22	24
25/06/2017	19	23	25
26/06/2017	18	20	21
27/06/2017	18	21	24
28/06/2017	18	20	23
29/06/2017	18	21	24
30/06/2017	18	21	24
01/07/2017	17	22	24
02/07/2017	17	23	25
03/07/2017	16	23	24
04/07/2017	17	20	22
05/07/2017	18	21	24
06/07/2017	17	22	24
07/07/2017	17	19	21
08/07/2017	17	22	24
09/07/2017	17	23	25
10/07/2017	18	20	21
11/07/2017	19	23	25
12/07/2017	19	21	22
13/07/2017	17	20	22
14/07/2017	17	21	24
15/07/2017	17	21	24
16/07/2017	16	21	24
17/07/2017	17	22	24
18/07/2017	15	21	24
19/07/2017	17	22	24
20/07/2017	17	21	23
21/07/2017	18	21	24
22/07/2017	17	23	24
23/07/2017	17	21	22
24/07/2017	17	19	23
25/07/2017	18	22	24
26/07/2017	16	21	24
27/07/2017	16	20	23
28/07/2017	17	20	23
29/07/2017	17	21	24
30/07/2017	17	21	24
31/07/2017	22	26	30
01/08/2017	17	21	24
02/08/2017	17	21	24
03/08/2017	17	19	20
04/08/2017	17	20	22
05/08/2017	17	21	23

Continución...

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
06/08/2017	16	21	23
07/08/2017	16	20	21
08/08/2017	16	21	23
09/08/2017	17	22	24
10/08/2017	18	22	25
11/08/2017	17	21	24
12/08/2017	16	22	24
13/08/2017	16	18	22
14/08/2017	17	19	22
15/08/2017	16	20	23
16/08/2017	16	23	24
17/08/2017	17	20	22
18/08/2017	18	21	24
19/08/2017	17	22	24
20/08/2017	17	19	21
21/08/2017	17	22	24
20/08/2017	17	23	25
22/08/2017	18	20	21
23/08/2017	19	23	25
24/08/2017	19	21	22
25/08/2017	17	20	22
26/08/2017	17	21	24
27/08/2017	17	21	24
28/08/2017	16	21	24
29/08/2017	17	22	24
30/08/2017	15	21	24
31/08/2017	17	22	24
01/09/2017	17	21	23
02/09/2017	18	21	24
03/09/2017	17	23	24
04/09/2017	17	21	22
05/09/2017	17	19	23
06/09/2017	18	22	24
07/09/2017	16	21	24
08/09/2017	17	22	24
09/09/2017	18	23	25
10/09/2017	16	21	23
11/09/2017	17	22	24
12/09/2017	16	21	23
13/09/2017	17	24	26
14/09/2017	16	22	24
15/09/2017	16	20	23
16/09/2017	17	22	24
17/09/2017	16	21	24
18/09/2017	16	23	25

Continución...

<b>Fecha</b>	<b>Temperatura mínima (°C)</b>	<b>Temperatura media (°C)</b>	<b>Temperatura máxima (°C)</b>
19/09/2017	16	21	23
20/09/2017	16	18	20
21/09/2017	15	18	22
22/09/2017	16	19	24
23/09/2017	16	19	22
24/09/2017	16	21	23
25/09/2017	16	21	24
26/09/2017	16	21	23
27/09/2017	16	22	24
28/09/2017	16	21	23
29/09/2017	16	20	22
30/09/2017	17	21	24
01/10/2017	15	20	22
02/10/2017	16	20	22
03/10/2017	16	21	23
04/10/2017	16	20	21
05/10/2017	16	22	24
06/10/2017	16	21	23
07/10/2017	17	20	23
08/10/2017	16	20	22
09/10/2017	15	19	21
10/10/2017	15	19	21
11/10/2017	15	20	22
12/10/2017	16	21	23
13/10/2017	16	22	24
14/10/2017	16	21	23
15/10/2017	16	22	24
16/10/2017	15	22	24
17/10/2017	16	21	23
18/10/2017	15	19	22



## Anexo 5

**Fertilizante N:P:K = 180:100:120 = urea:fosfato diamónico:sulfato de potasio**

1. Fosfato diamónico FDA: 18%N; 46%P ( $P_2O_5$ )

$$100\text{Kg FDA} \rightarrow 46 \text{ UP}$$

$$X \rightarrow 100 \text{ UP}$$

$$X = \frac{100 \times 100}{46} = \boxed{217,3\text{Kg FDA ha}^{-1}}$$

2. Urea 180 – 39,111 = 140,889 UN

Urea: 46%

$$100\text{Kg urea} \rightarrow 46 \text{ UN}$$

$$X \rightarrow 140,889 \text{ UN}$$

$$X = \frac{100 \times 140,889}{46} = \boxed{306,2\text{Kg urea ha}^{-1}}$$

3. Sulfato de potasio: 50% K

$$100\text{Kg sulfato de potasio} \rightarrow 50 \text{ UK}$$

$$X \rightarrow 120 \text{ Uk}$$

$$X = \frac{100 \times 120}{50} = \boxed{240\text{Kg sulfato de potasio ha}^{-1}}$$

Radio de la maceta = 8,6cm

Área circunferencia =  $\pi \cdot r^2$

$$A = (3.14) (8.6)^2$$

$$\boxed{A = 232\text{cm}^2} \rightarrow 0,0232\text{m}^2$$

Fosfato diamónico: 217,3Kg FDA ha<sup>-1</sup>

$$217,3\text{Kg} \rightarrow 10\,000 \text{ m}^2$$

$$X \rightarrow 0,0232 \text{ m}^2$$

$$X = 0,000504136\text{Kg} = \boxed{0,504136\text{g}}$$

Urea 306,2Kg urea ha<sup>-1</sup>

$$306,2\text{Kg} \rightarrow 10\,000 \text{ m}^2$$

$$X \rightarrow 0,0232 \text{ m}^2$$

$$X = 0,000710384\text{Kg} = \boxed{0,710384\text{g}}$$

Sulfato de potasio: 240Kg sulfato de potasio ha<sup>-1</sup>

$$240\text{Kg} \rightarrow 10\,000\text{ m}^2$$

$$X \rightarrow 0,0232\text{ m}^2$$

$$X = 0,0005568\text{Kg} = \boxed{0,5568\text{g}}$$

## Anexo 6

### Número y peso de frutos de *Lycopersicon esculentum* Mill. por calidad comercial

Número de frutos comerciales por calidad

Tratamiento	Número de frutos/calidad		
	Primera	Segunda	Tercera
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	15	23	32
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	18	26	35
<i>Nocardia</i> sp.30.6	12	21	29
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	14	22	31
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	16	25	33
Testigo químico	14	21	30
Testigo absoluto	12	19	23

Peso de los frutos comerciales por calidad

Tratamiento	Peso de frutos/calidad		
	Primera	Segunda	Tercera
<i>Streptomyces</i> sp.39.2	1,780	1,326	1,040
<i>Streptomyces</i> sp.50.1	1,936	1,428	1,280
<i>Nocardia</i> sp.30.6	1,522	1,211	0,956
<i>Streptomyces</i> sp.30.1	1,658	1,279	1,174
<i>Streptomyces</i> sp.11.2	1,687	1,401	1,156
Testigo químico	1,734	1,402	1,179
Testigo absoluto	1,518	1,261	1,005