



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



Efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en el desarrollo de *Zea mays* L. “maíz” en invernadero

TESIS

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA
MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA

PRESENTADO POR:

Br. Llenque Paiva, Danny Wilfredo

Br. Meléndez Gallardo, Paúl Blademir

LAMBAYEQUE – PERÚ

2011

Efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en el desarrollo de *Zea mays* L. “maíz” en invernadero

TESIS

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGIA MICROBIOLOGIA – PARASITOLOGIA

PRESENTADO POR:

Br. Llenque Paiva, Danny Wilfredo
Br. Meléndez Gallardo, Paúl Blademir

APROBADA POR:

M.Sc. César Alfredo Vargas Rosado

PRESIDENTE

Lic. Julio César Silva Estela

SECRETARIO

Dr. César García Espinoza

VOCAL

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

PATROCINADORA

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS	4
2.1 El fósforo como nutriente esencial	4
2.2 Roca fosfórica de Bayóvar	6
2.3 Solubilización microbiana del fósforo	9
2.4 Cultivo de maíz	11
III. MATERIAL Y MÉTODOS	14
3.1 Material	14
3.1.1 Material biológico	14
3.1.2 Población y muestra de estudio	14
3.2 Métodos	14
3.2.1 Variables	14
a. Variable independiente	14
b. Variable dependiente	14
3.2.2 Diseño metodológico de la investigación	15
3.2.3 Primera fase: Aislamiento, selección según la eficiencia de solubilización e identificación de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar	15
a. Zona de muestreo	15
b. Obtención de muestras de raíces y suelo rizosférico	17
c. Aislamiento de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar	17
d. Solubilización de roca fosfórica <i>in vitro</i> por bacterias nativas	22
e. Cálculo de la eficiencia de solubilización de roca fosfórica <i>in vitro</i>	22

f. Selección de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar	25
g. Identificación de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar	25
3.2.4. Segunda Fase: Efecto de la inoculación de cuatro bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en el desarrollo vegetativo de maíz amarillo duro variedad Marginal 28–T mejorado, en condiciones de invernadero	26
a. Ubicación del experimento	26
b. Época de la instalación del cultivo	26
c. Recolección de análisis físico - químico del suelo experimental	26
d. Registro de temperatura	28
e. Características de la especie vegetal cultivada	28
f. Tratamientos en estudio y diseño experimental	28
g. Tratamiento de las semillas	28
h. Siembra de la especie vegetal.....	31
i. Inoculación de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en la rizósfera de maíz.....	31
j. Manejo del cultivo	35
k. Evaluaciones realizadas	35
l. Análisis estadístico	35
IV. RESULTADOS	39
4.1 Bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar aisladas en raíces y suelo rizosférico de <i>Zea mays</i> L. “maíz” en el distrito de Reque, Lambayeque, 2010	39
4.2 Eficiencia de solubilización de roca fosfórica de Bayóvar	

in vitro por bacterias nativas	43
4.3 Efecto de la inoculación en la rizósfera de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar sobre el desarrollo vegetativo de <i>Zea mays</i> L. “maíz” en condiciones de invernadero	51
V. DISCUSIÓN	69
5.1 Bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar aisladas en raíces y suelo rizosférico de <i>Zea mays</i> L. “maíz” en distrito de Reque, Lambayeque, 2010	69
5.2 Efecto de la inoculación en la rizósfera de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar sobre el desarrollo vegetativo de <i>Zea mays</i> L. “maíz” amarillo duro variedad marginal 28-T mejorado, en condiciones de invernadero	72
VI. CONCLUSIONES	75
VII. RECOMENDACIONES	76
VIII. RESUMEN	77
IX. REFERENCIAS	78
X. ANEXOS	85

I. INTRODUCCIÓN

Lambayeque, es una región esencialmente agrícola, habiéndose registrado en la última campaña agrícola (iniciada en agosto de 2010) 26 934 ha de suelos agrícolas (Ministerio de Agricultura OEEE, 2010) utilizados para el cultivo de *Zea mays* L. “maíz”; sin embargo, los rendimientos se ven afectados negativamente por plagas, enfermedades y factores nutricionales como deficiencia de nitrógeno, fósforo y potasio.

El fósforo después del nitrógeno, es el nutriente inorgánico más requerido para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Es denominado «la llave de la vida», porque está directamente implicado en la mayoría de los procesos vitales de las plantas y es un constituyente esencial de numerosas coenzimas; interviene en la síntesis de carotenoides y lípidos, y está presente en todas las células, con tendencia a concentrarse en las semillas y zonas de crecimiento; no obstante, la mayor parte del fósforo presente en los suelos no es aprovechable por las plantas, debido a su baja solubilidad.

En el maíz, la deficiencia de fósforo se asocia con lentitud en el desarrollo y madurez de la planta, hojas y tallos de color morado rojizo, retardo en la emisión de pistilos y producción de mazorcas defectuosas con la punta inclinada hacia un lado

por falta de llenado de los granos del extremo final. La forma más conocida y empleada para suplir las necesidades de fósforo en los cultivos de maíz es la fertilización química (superfosfato simple, superfosfato triple, fosfato diamónico y fosfato dicálcico), la cual representa una manera rápida de reponer el fósforo perdido; sin embargo, bajo un manejo inadecuado constituye un riesgo ecológico por contaminación del suelo y del agua, ya que rápidamente es fijado en el suelo en formas insolubles y asimilado lentamente por las plantas. La asimilación del fósforo por las plantas es óptima en valores de pH comprendidos entre 6,5 a 7,5. En suelos con pH inferior a 6,5 y con pH comprendidos entre 7,5 a 8,5 el fósforo soluble reacciona con los iones hierro, aluminio y calcio, formando óxidos e hidróxidos de hierro, aluminio y carbonatos de calcio respectivamente los que inmovilizan el fósforo constituyendo en todos los casos fósforo insoluble que no está disponible para los vegetales (Hernández & Chailloux, 2001).

Según Gutiérrez (1995) los depósitos de fosfatos de Bayóvar están ubicados en el Desierto de Sechura, provincia de Sechura, región Piura, comprendidos entre los paralelos 05° 28' y 06° 30' de latitud sur y los meridianos 80° 30' y 81° 10' de longitud oeste, a una altura que oscila entre 30 y -30 msnm. El clima es típicamente desértico y árido. La roca beneficiada de Bayóvar es relativamente suave, blanda, de grano fino, altamente soluble al ácido (pH menor a 6) y evidentemente superior a otras rocas para usos de aplicación directa como fertilizantes, en condiciones aparentes del suelo. La roca fosfórica de Bayóvar está compuesta químicamente por P₂O₅ (30,0 %), K₂O (0,2 %), CaO (47,0 %), Si₂O (2,6 %), SO₃ (4,4 %), Al₂O₃ (0,2 %), Fe₂O₃ (0,6 %), F (2,8 %), CO₂ (4,0 %), MgO (0,6 %), Na₂O (1,5 %), Cl (0,1 %) y H₂O (6,0 %).

Debido a la insolubilidad de la roca fosfórica su reacción con el suelo es mínima. Su efectividad es prioritariamente en suelos ácidos limitando su aplicación en los suelos de la costa, que en su mayoría presentan un pH ligera a medianamente alcalino. Es por ello, que la mayor parte de la roca fosfórica de

Bayóvar extraída es exportada a diferentes países del mundo, sin poder ser aprovechada por los agricultores de la costa peruana.

Se ha determinado que en las raíces de las plantas y suelos rizosférico de cultivos existen microorganismos, entre ellos bacterias, que pueden solubilizar fosfatos insolubles como la roca fosfórica de Bayóvar, gracias a la excreción de ácidos orgánicos, originando formas solubles que son absorbidas por las plantas; sin embargo, en la actualidad se desconocen las características de las bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar que se encuentran en las raíces y suelo rizosférico de los cultivos de maíz del distrito de Reque, por lo que se hace necesario su aislamiento, selección e identificación, determinando su eficiencia en el laboratorio y en invernadero para que en trabajos posteriores se investigue su efecto sobre el desarrollo de los cultivos y su rendimiento en campo.

La producción del cultivo de maíz será ampliamente favorecida con la aplicación de un biofertilizante constituido por bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar que incrementen la solubilidad de este mineral permitiendo una mayor disponibilidad de fósforo para el cultivo, disminuyendo la cantidad de fertilizante mineral aplicado y su impacto negativo en el ambiente, así como mejorando la productividad del cultivo. Por lo expuesto, en la presente investigación se planteó el siguiente problema ¿Cuál es el efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en el desarrollo de *Zea mays* L. “maíz” en invernadero?. Para solucionar el problema se plantearon como objetivos aislar bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en raíces y suelo rizosférico de *Zea mays* L. “maíz” obtenidas de campos agrícolas del distrito de Reque, provincia de Chiclayo, región Lambayeque, determinar la eficiencia de solubilización de roca fosfórica de Bayóvar “*in vitro*” por bacterias nativas y su identificación así como determinar el efecto de la inoculación en la rizósfera de cuatro bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar sobre el desarrollo de *Zea mays* L. “maíz” en condiciones de invernadero.

II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

2.1 El fósforo como nutriente esencial

El fósforo es un elemento esencial para las plantas. Integra la estructura de

los ácidos nucleicos y fosfolípidos. Está presente en las moléculas de transferencia de energía (ATP, ADP, AMP y pirofosfato) en procesos de síntesis y degradación y, es parte esencial de glucofosfatos que participan en la fotosíntesis y respiración (Barceló *et al.*, 2003). Se le reconoce un papel fundamental como factor de crecimiento, estimulando la germinación de semillas, brotación de yemas, favoreciendo la actividad de los ápices vegetativos y el crecimiento de las raíces; como factor de precocidad, acortando la fase vegetativa y estimulando la entrada de la planta en la fase reproductiva al adelantar la floración y favorecer la fecundación, cuajado y madurez de los frutos; como factor vigorizante, aumentando la resistencia al frío y a las enfermedades; y como factor de calidad, mejorando los caracteres organolépticos de frutos, flores y hortalizas (Hernández & Chailloux, 2001).

Los organismos vivos asimilan el fósforo inorgánico como ión fosfato y en las células, es incorporado a los compuestos orgánicos por esterificación. Cuando una planta o un animal mueren, el fósforo es liberado durante la descomposición y se regenera el fósforo inorgánico. El ciclo del fósforo implica transformaciones entre los depósitos orgánicos e inorgánicos, así como entre las formas insolubles y solubles a través de los procesos microbianos de solubilización, inmovilización y mineralización del fósforo (Coyne, 2000).

En el suelo no existe fósforo libre sino iones fosfato, los cuales, a su vez pueden estar como formas aniónicas: H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} y sus combinaciones. Las formas aniónicas pueden encontrarse libres o fijas a diversas partículas capaces de retenerlas y en ambos casos, se conocen como fosfato soluble, que puede ser asimilado por los vegetales (Espinoza, 1998). Según Tisdale *et al.* (1993) el fósforo es absorbido por las plantas mayoritariamente como iones ortofosfato (H_2PO_4^- y HPO_4^{2-}), los cuales están presentes en la solución del suelo. La cantidad de cada una de las formas presentes depende del pH de la solución del suelo, así a un pH de 7,2 se encuentran aproximadamente cantidades equivalentes de ambas especies iónicas, pero a medida que el pH disminuye el ión

H_2PO_4^- es la forma predominante en la solución del suelo, mientras que el ión HPO_4^{2-} es que predomina a un mayor pH. La planta toma el HPO_4^{2-} más lentamente que el H_2PO_4^- .

Las combinaciones de fósforo pueden ser orgánicas e inorgánicas y ambas constituyen el fósforo no soluble, es decir aquel que no puede ser utilizado o asimilado como nutriente (Vásquez *et al.*, 2000). Las combinaciones inorgánicas o fosfatos precipitados son denominados también fosfato mineral que no puede ser utilizado por las plantas especialmente en suelos con pH extremos y en presencia de cationes libres (Espinoza, 1998). El pH puede inducir la fijación o precipitación del fósforo. Su asimilación es óptima solo en valores de pH comprendidos entre 6,5 a 7,5. En suelos con pH elevados (mayores a 7,5 pero menores a 8,5) los fosfatos se asocian principalmente con el calcio (carbonato de calcio) y en suelos con pH ácido (inferior a 6,5), los fosfatos precipitan como fosfatos de hierro y aluminio (óxidos e hidróxidos de hierro y aluminio). Los fosfatos precipitados necesitan ser solubilizados para liberar fósforo inorgánico soluble que pueda ser utilizado por los vegetales (Tiessen *et al.*, 1994).

Los suelos agrícolas contienen reservas de fósforo total; sin embargo, la producción se ve limitada por la escasa disponibilidad de fósforo asimilable debido a que solo un porcentaje muy bajo (entre 0,1 y 0,3 ppm) se encuentra realmente en solución, plenamente disponible para las plantas (Rodríguez, 2002). La deficiencia de fósforo en los cultivos se manifiesta con escaso vigor, retraso y falta de crecimiento, floración tardía y deficiente, fallas en la fecundación y cuajado de los frutos, retraso en la maduración y escasa calidad de frutos (González, 2001).

2.2 Roca fosfórica de Bayóvar

La roca fosfórica es reconocida como una valiosa fuente alternativa de fertilizante fosforado, especialmente en suelos ácidos. Su valor económico se ha incrementado considerablemente conforme a los costos de producción de otros fertilizantes como el superfosfato. Casi sin excepción las rocas fosfóricas son

minerales fosforitas nativas que contienen poco o nada de fósforo soluble en agua y cantidades variables de fósforo soluble en citrato, que es un solvente utilizado por la industria para medir solubilidad en las rocas (Campillo, 1990).

Las rocas fosfóricas son minerales ricos en fósforo que generalmente presentan un alto contenido de calcio. Químicamente corresponden a fosfatos tricálcicos o apatitas, cuya principal característica es su escasa solubilidad en agua (Sierra, 1990). Las rocas fosfatadas difieren altamente en su composición química y el contenido de apatita (material fosfatado principal) puede ser muy variable (Bolan *et al.*, 1994). Son solubles en ácidos débiles o fuertes (Sierra, 1990). Después de varios procesos y pasos de purificación, la roca fosfórica contiene entre 11,5 y 17,5 % de fósforo (27 a 41 % P_2O_5 , usualmente 30 %). El fósforo contenido es insoluble en agua, aunque las proporciones solubles en citrato son variables y oscilan entre 5 a 17 % del total del fósforo contenido (Tisdale *et al.*, 1993).

La propiedad de las rocas fosfóricas de ser insolubles en agua produce que la reacción con el suelo sea mínima, se libera inicialmente una cantidad menor de fósforo y no se desprende a la vez una solución ácida. Por tal motivo, se reduce la formación de precipitados, lo cual es una ventaja. Este comportamiento es distinto de lo que ocurre con los fertilizantes que son solubles, que al inducir una reacción de adsorción del fosfato casi instantáneamente en los componentes del suelo, restringen el aprovechamiento del fósforo por las plantas (Sepúlveda *et al.*, 1997).

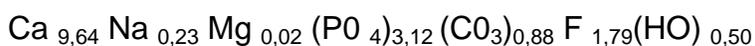
La mínima liberación, pero sostenida de fósforo que aportan las rocas fosfóricas durante las distintas etapas de crecimiento de las plantas, especialmente cuando existen raíces desarrolladas, facilita la competencia de ellas por el fósforo; sin embargo, ésta cantidad inicial no satisface a veces la demanda en la primera etapa de vida de las plantas, razón por la cual la roca fosfórica ha sido recomendada para cultivos de ciclos largos. Esto permite postular que el mejor fertilizante es aquel que puede entregar equilibradamente su fósforo en función de la demanda en el ciclo de crecimiento de los cultivos y del

rendimiento esperado. En términos generales las rocas fosfóricas, además de tener fósforo y calcio, presentan elementos como magnesio y potasio que están en bajas concentraciones, así como también azufre cuyo contenido es aún menor. Respecto al cloro, está presente en mínimas concentraciones en muchas de las rocas fosfóricas por lo que no es considerado nocivo (Campillo, 1990).

La reactividad de las rocas fosfóricas está determinada por su composición química y puede ser evaluada experimentalmente por su solubilidad en extractantes ácidos diluidos. Dichos ácidos son citrato de amonio a pH 7, ácido cítrico al 2 %, y ácido fórmico. La determinación con citrato de amonio a pH 7 es un indicador de solubilidad a mediano plazo. La solubilidad en ácido cítrico al 2 % es un indicador del comportamiento de la roca fosfórica en un medio más ácido. Para el caso del ácido fórmico éste presenta una mayor actividad (Sierra, 1990).

La cantidad de fósforo solubilizado en una determinada solución, no tiene el mismo significado para una roca fosfórica que para un fertilizante manufacturado. La solubilidad del fósforo o la reactividad de una roca fosfatada solamente es un índice relacionado con la velocidad a la cual la roca se disuelve y se hace disponible para las plantas (Pinilla, 1994). En general se puede decir que la disolución de la roca se favorece en condiciones de acidez (pH menor a 6) y bajos contenidos de calcio y fósforo en la solución del suelo. Es así, que las rocas fosfóricas aportan calcio a través de su componente carbonato de calcio en suelos de estas características y a la vez neutralizan la acción tóxica del aluminio en algunos suelos (Campillo, 1990; Sierra, 1990; Rojas *et al.*, 1993).

Según Cheney *et al.* (1979) el fosfato de Bayóvar presenta como mineral principal a la hidroxiapatita y en menores proporciones fluorapatitas y apatitas carbonatadas. Además, se encuentra mezclado con impurezas de diatomitas, vidrio volcánico, sales solubles de sodio y potasio, cuarzo, feldespato y micas. La fórmula empírica con aproximación de este fosfato fluorhidroxicarbonato apatita es:



La efectividad agronómica de la roca fosfórica está relacionada con su solubilidad y ésta a su vez es dependiente del pH del medio, actividad del ión calcio en la solución suelo, contenido de materia orgánica, grado de sustitución de carbonato en la roca fosfórica y tamaño de partícula o finura. La reacción o pH, actividad del calcio y materia orgánica, corresponden a características del suelo y el grado de sustitución de carbonato y finura corresponden a características de la roca fosfórica. Comparada con rocas fosfóricas de otros lugares, la de Bayóvar resulta ser la de más alta reactividad (Khasawneh & Doll, 1978).

Durante los últimos 20 años se han realizado esfuerzos para propiciar el uso de roca fosfatada en sustitución y/o complementación con fuentes solubles (superfosfato simple, superfosfato triple, fosfato diamónico). Numerosos ensayos han demostrado esta posibilidad; sin embargo, por diversas razones sigue prevaleciendo el uso de fuentes solubles que llegan a constituir más del 90 % del consumo total de P_2O_5 , de aproximadamente 30,000 t/año (López, 1986).

El fosfato de Bayóvar cumple mejor rol en suelos ácidos y en cultivos perennes que en anuales, por su efecto como fertilizante residual y como enmienda cálcica y por su composición. Rojas (1975) y Vivanco *et al.* (1998) estudiaron el comportamiento del fosfato de Bayóvar y del superfosfato triple de calcio en un cultivo secuencial maíz-frijol en suelos ácidos en la selva. La aplicación fue a razón de 0,200 y 400 Kg de P_2O_5 ha^{-1} de cada uno y la mezcla de ambos. Los rendimientos de las parcelas que recibieron las tres dosis de fosfatos mencionadas no fueron diferentes estadísticamente entre ellos, pero si se diferenciaron del testigo (sin P_2O_5). Con aplicaciones de fosfato de Bayóvar al suelo, después de 195 días, el pH inicial de 4,0 subió a 4,9, el aluminio inicial de 2,66 mEq/100g bajó a 0,612 mEq/100g y, finalmente, el fósforo disponible inicial de 6,1 ppm subió a 10,06 ppm.

La aplicación de roca fosfórica es una alternativa para la fertilización de mantención, especialmente en suelos ácidos (pH menor a 6). Esto ha sido demostrado en estudios en Nueva Zelanda, cuyas características climáticas, de

suelo y especies pratenses son similares a los lugares donde experimentalmente se han adicionado al suelo roca fosfórica de Bayóvar y Carolina del Norte, comparando su efecto con fertilizantes monocálcicos, observándose que los mayores efectos positivos se han logrado en praderas permanentes versus cultivos de cereales y praderas anuales (Campillo, 1990).

Tomasini (1983) determinó una mayor eficiencia de la roca fosfórica de Bayóvar frente a la roca fosfórica de Florida aplicadas en 18 suelos con niveles medios de fósforo de la zona central del Perú en el cultivo de papa; sin embargo, ambas rocas tuvieron una menor eficiencia relativa que el superfosfato simple. Asimismo Bandy & León (1983) determinaron la eficiencia agronómica de estas dos rocas con respecto al superfosfato simple a tres niveles de aplicación (44, 88 y 176 kg P ha⁻¹) y tres tratamientos de acidulación parcial en el cultivo de *Oryza sativa* L. “arroz” en Yurimaguas, Perú. No se encontró respuesta a la acidulación y debido a la alta reactividad de la roca en suelos ácidos, el fósforo disponible fue similar en los tratamientos con roca fosfórica de Bayóvar y el superfosfato simple a todos los niveles con excepción del 176 kg P ha⁻¹. El efecto residual se mantuvo hasta el tercer cultivo y el mayor nivel disminuyó considerablemente la saturación de aluminio. Los dos tratamientos con roca fosfórica fueron siempre superiores al control pero no superaron al nivel de 22 kg P ha⁻¹ de superfosfato simple aplicados en cada cultivo.

Noel (1976) comparó en el cultivo de *Sorghum bicolor* L. “sorgo”, en condiciones de invernadero, la roca fosfórica de Bayóvar con la roca fosfórica de Florida en un suelo fuertemente ácido (pH 4,8) con diferentes niveles de capacidad máxima de absorción y tres tamaños de partículas 60, 150, 270 mallas. Se determinó una mayor concentración de fósforo en la parte aérea y mayor rendimiento en materia seca en tres cortes consecutivos en los tratamientos con aplicación de roca fosfórica de Bayóvar, así como una mayor concentración de nitrógeno en las hojas cuanto menor fue el tamaño de la partícula de la roca.

2.3 Solubilización microbiana del fósforo

Se ha determinado que en raíces y suelo rizosférico existen bacterias y hongos que gracias a la excreción de ácidos orgánicos como ácido fórmico, acético, propiónico, láctico, glicólico, fumárico y succínico pueden solubilizar el fósforo, es decir liberar el fósforo que se encuentra fijado en el suelo (en combinaciones minerales) originando formas químicas solubles (ortofosfatos) que pueden ser absorbidos por las plantas. A estos microorganismos se les ha denominado solubilizadores de fósforo (MSF) y al proceso solubilización microbiana del fósforo (Vásquez *et al.*, 2000).

El papel de los ácidos orgánicos en la solubilización del fósforo insoluble, se puede dar como resultado de la disminución del pH, la quelación de cationes y la competencia con el fósforo por sitios de absorción en el suelo. También se ha reportado que los ácidos orgánicos pueden formar complejos solubles con iones metálicos asociados con fósforo insoluble (calcio, aluminio, hierro) y así, el fósforo es liberado (Nahas, 1996). El análisis cromatográfico de gases de medios de cultivo una vez libres de células bacterianas solubilizadoras de fósforo, demostró la presencia de once ácidos orgánicos volátiles y no volátiles. Los ácidos más comúnmente producidos fueron ácido láctico, succínico, isovalérico, isobutírico y acético, observándose asimismo que la mayoría de las especies bacterianas producen más de un ácido orgánico (Vásquez *et al.*, 2000).

A pesar de que se han descrito varios mecanismos en la solubilización del fósforo, el principal es la producción de ácidos orgánicos (Ferrera, 1995); sin embargo, también se ha postulado que la excreción de protones acompañada a la asimilación del ión amonio es la explicación más probable para la solubilización microbiana del fósforo en ausencia de la producción de ácidos (Nahas, 1996).

Las bacterias solubilizadoras del fósforo incluyen géneros como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Vibrio*, *Xanthobacter*, *Enterobacter*, *Kluyvera*, *Micrococcus*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Burkholderia* (Vásquez *et al.*, 2000; Díaz *et al.*, 2001). En laboratorio, pueden ser detectadas

utilizando medios de cultivo líquidos o sólidos que contengan fosfato insoluble en solución. En medios líquidos, la positividad esta dada por el aclaración del medio (Vásquez *et al.*, 2000) y en medios sólidos, por la formación de una zona clara alrededor de la colonia (Vásquez *et al.*, 2000; Moratto *et al.*, 2005). Utilizando ambos medios se detectaron y aislaron bacterias solubilizadoras de fósforo en raíces de manglares (*Avicemia germinas* L. y *Laguncularia racemosa* L.), siendo identificadas como *Pseudomonas stutzeri*, *Enterobacter aerogenes*, *E. taylorae*, *E. asburiae*, *Paenibacillus macerans*, *Chryseomonas luteola*, *Xanthobacter agilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. atrophaeus*, *Vibrio proteolyticus* y *Kluyvera cryocrescens* (Vásquez *et al.*, 2000).

Se ha aislado y seleccionado bacterias solubilizadoras de fósforo tomando muestras de raíces y suelo rizosférico de plántulas de *Ilex paraguariensis* “yerba mate” y sembrándolas en medio sólido con 5 g L⁻¹ de fosfato tricálcico, donde la capacidad solubilizadora fue comprobada a través de la formación de un halo translúcido (Collavino & Aguilar, 2005). De igual manera, a partir de suelos con cultivos comerciales de *Glicyne max* “soya” se obtuvieron 14 aislamientos de bacterias solubilizadoras, cuyas colonias presentaron halos que oscilaron entre 4 a 15 mm (Fernández *et al.*, 2005) y a partir de suelos con cultivos de *Zea mays* L. “maíz” se obtuvieron 19 colonias bacterianas con halos que oscilaron entre 1 a 6 mm, identificándose a los géneros *Bacillus*, *Micrococcus* y *Pseudomonas* (Dávila & LLochla, 2004) así como halos que oscilaron entre 1 a 11 mm para los géneros *Bacillus*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Serratia*, *Xanthomonas*, *Burkholderia* y *Pseudomonas* (Carreño, 2009).

Las bacterias solubilizadoras de fósforo pueden mejorar la fertilidad del suelo e incrementar la nutrición de la plantas por lo que sus poblaciones deben ser establecidas e incrementadas, partiendo de su inoculación en plantas, semillas o suelo (Treto, 2005). En la literatura científica no existen trabajos realizados sobre bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar, pero sí de hongos. En Lambayeque Aparicio & Arias (2009) aislaron 17 géneros de hongos

solubilizadores de roca fosfórica de Bayóvar, en raíces y suelo rizosférico de *Lycopersicon esculentum* Mill “tomate”, siendo identificados como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizoctonia*, *Cunninghamella*, *Paecilomyces*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Blastomyces*, *Chrysosporium*, *Curvularia*, *Helminthosporium*, *Monilia*, *Penicilium*, *Trichotecium* y un micelio no esporulante. Los valores mayores en eficiencia de solubilización de roca fosfórica de Bayóvar *in vitro* correspondieron a *Cunninghamella sp.* UNPRG LJ024 (13,25 %), *Mucor sp.* UNPRG LJ030 (10,26 %) y *Aspergillus sp.* UNPRG LJ156 (9,06 %).

2.4 Cultivo de maíz

El maíz es una especie perteneciente a la familia de las gramíneas (Poáceas), siendo el cereal con mayor volumen de producción en el mundo, superando al trigo y arroz. El centro geográfico de origen y dispersión del maíz, se ubica en el Municipio de Coxcatlán en el valle de Tehucán, Estado de Puebla, en la denominada Mesa Central de México a 2,500 m sobre el nivel del mar. El maíz es una planta monoica; sus inflorescencias masculinas y femeninas se encuentran en la misma planta. Si bien la planta es anual, su rápido crecimiento le permite alcanzar hasta los 2,5 m de altura, con un tallo erguido, rígido y sólido. Algunas variedades silvestres alcanzan los 7 m de altura. Tiene 10 cromosomas ($n = 10$), algunos de los cuales están repetidos, en dominios heterocromáticos que producen razas de granos oscuros.

La clasificación taxonómica del maíz, mencionada por Doebley & Stec (1993) es:

Dominio	:	Eukarya
Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta

Clase	:	Liliopsida
Subclase	:	Commelinidae
Orden	:	Poales
Familia	:	Poaceae
Subfamilia	:	Panicoideae
Tribu	:	Andropogoneae
Género	:	<i>Zea</i>
Especie	:	<i>Z. mays</i> L.

El maíz constituye uno de los cereales más importantes en la alimentación a nivel mundial, debido a su valor histórico, económico y gran capacidad de adaptabilidad a diferentes climas y suelos. En la costa peruana principalmente se cultiva maíz amarillo duro y semiduro, destinados a la elaboración de alimentos balanceados para animales y obtención de derivados. En la sierra, se cultivan maíces blandos amiláceos, destinados mayormente a la alimentación humana (Blanco, 2007).

El maíz amarillo duro Marginal 28-T mejorado, es una variedad de libre polinización, creada en el programa de maíz del Instituto Nacional de Investigación Agraria-Lima (INIA), en el año de 1983 para las zonas tropicales y subtropicales. Se ha formado en base a los maíces cristalinos y dentados del Caribe y otras regiones bajas del mundo. Se adapta a condiciones calurosas de la selva. Se recomienda sembrarlo hasta 1,800 msnm, en todo tipo de terreno de vocación maicera. El periodo vegetativo (siembra-cosecha), en el verano es de 110 a 120 días, y en el invierno es de 130 a 140 días. En campos comerciales se ha registrado un potencial de rendimiento de grano que llega a 8 t ha⁻¹, pero se estima que en zonas marginales, suelos pobres y de poco acceso al agua se debe estar cosechando 4 t ha⁻¹. Su producción resultante es económicamente mejor al de un híbrido, por tener un mejor requerimiento de agua, tolerancia a la sequía y mayor producción en suelos marginales o pobres en nutrientes (Ministerio de Agricultura, 2009).

En el Perú durante el año 2010 la producción de maíz amarillo duro fue de 1,27 millones de toneladas métricas (TM), cosechadas en 304,873 hectáreas (Ministerio de Agricultura, 2010). En la parte baja del valle Chancay, Lambayeque (Sásape y Morrope), los promedios ligeramente alcanzan 4 t ha^{-1} y al estudiar la problemática del maíz, se encontró que el nivel tecnológico está directamente relacionado con los rendimientos, habiéndose determinado niveles tecnológicos bajos, medios y altos, con rendimientos de 3,40; 6,30 y $8,40 \text{ t ha}^{-1}$ respectivamente (Núñez, 2003).

En la costa norte el maíz amarillo duro se puede sembrar todo el año, considerándose como periodo apropiado de abril a setiembre y como periodo óptimo de mayo a julio. Responde muy favorablemente en suelos profundos de textura media, tipo franco y con alta capacidad de retención de humedad. Se adapta a suelos con pH ligeramente ácido (5,6) a ligeramente alcalino (7,5), necesita buen drenaje y tolera niveles de salinidad de hasta 6 mmhos cm^{-1} . En cuanto a la humedad, se han establecido dos épocas en las que el maíz requiere más agua, cuando está en su primera fase de crecimiento y cuando está en floración y fructificación (Serquén, 2004).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Material biológico

El material biológico estuvo conformado por muestras de raíces y suelo rizosférico de *Zea mays* L. “maíz” obtenidas de campos agrícolas del distrito de Reque, provincia de Chiclayo, región Lambayeque así como por bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y semillas de maíz amarillo duro variedad Marginal 28–T mejorado.

3.1.2 Población y muestra de estudio

La población estuvo constituida por las bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar presentes en las raíces y suelo rizosférico de maíz, y la muestra estuvo conformada por 126 aislamientos provenientes de 80 muestras de raíces y suelo rizosférico obtenidos durante los meses de junio a octubre de

2010. El número de la muestra fue calculado según la fórmula mencionada por Alvitres, 2000 (Anexo 1).

3.2 Métodos

3.2.1 Variables

a. Variable independiente

Bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar.

b. Variable dependiente

Desarrollo vegetativo de maíz amarillo duro variedad Marginal 28–T mejorado.

3.2.2 Diseño metodológico de la

El trabajo de investigación se realizó en dos fases. En la primera fase descriptiva, se realizó el aislamiento y la eficiencia de solubilización e identificación de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar utilizando un diseño no experimental transeccional descriptivo. En la segunda fase, correspondiente a una investigación explicativa con un diseño experimental se determinó el efecto de la inoculación de cuatro bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en el desarrollo vegetativo de maíz amarillo duro variedad Marginal 28 – T mejorado en condiciones de invernadero. Se utilizó un diseño completamente aleatorio (DCA) (Hernández *et.al.*, 2003) con trece tratamientos y tres repeticiones, totalizando 39 unidades experimentales.

3.2.3 Primera fase: Aislamiento, selección según la eficiencia de solubilización e identificación de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar

En la primera fase del trabajo de investigación se aislaron bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y se determinó la eficiencia de solubilización.

a. Zona de muestreo

Para aislar bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar durante los meses de junio a octubre de 2010, se recolectaron 80 muestras de raíces y suelo rizosférico de cultivos de maíz, establecidos en campos comerciales del distrito de Reque, provincia de Chiclayo, región Lambayeque.

El distrito de Reque (Figura 1) está comprendido entre los paralelos 6° 52' 47" y 6° 48' 55" de latitud sur y los meridianos 79° 50' 47" y 79° 44' 59" de longitud oeste con una altitud promedio de 21 msnm. La zona presenta un clima semitropical, con un rango de temperatura media de 28 °C hasta máxima absoluta de 30 °C (Municipalidad de Reque, 2008).

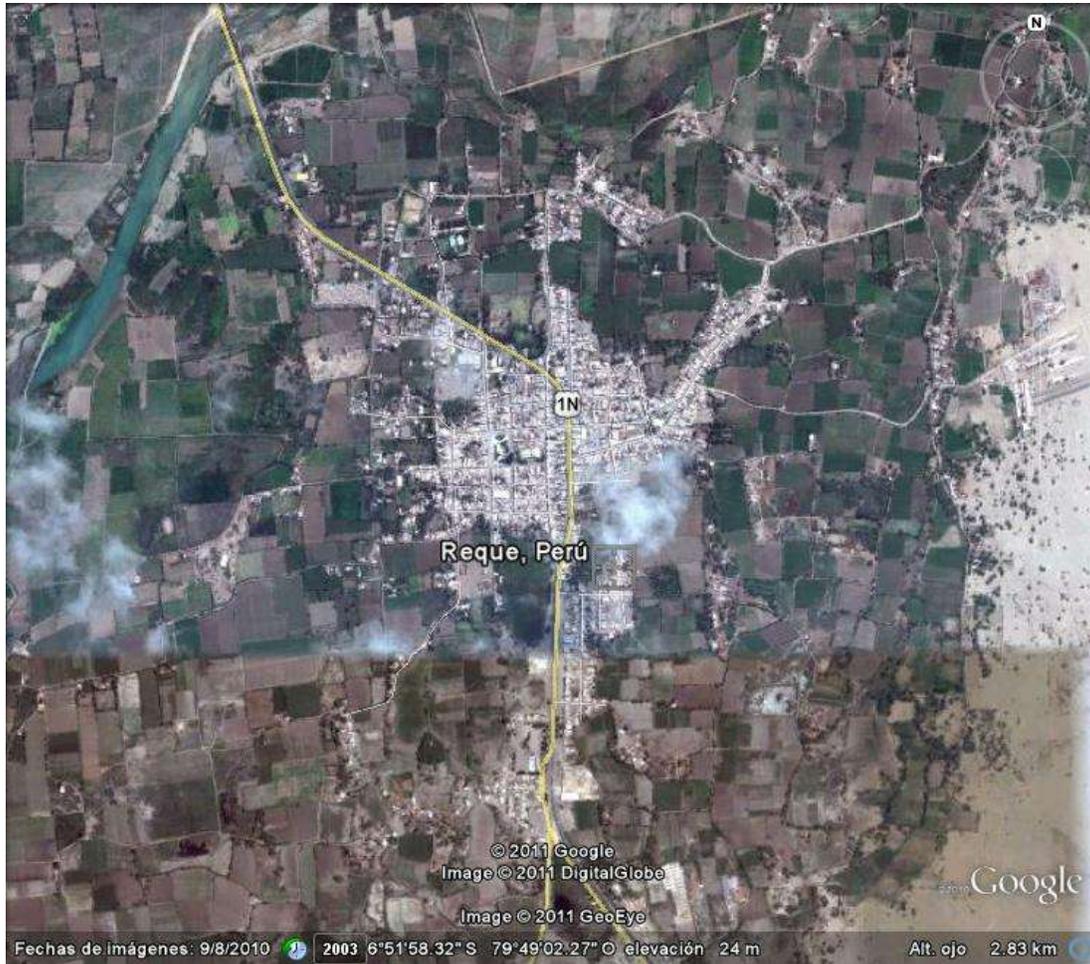


Figura 1. Ubicación de la zona de muestreo correspondiente al distrito de Reque, provincia Chiclayo, Región Lambayeque. Noviembre, 2010.

b. Obtención de muestras de raíces y suelo rizosférico

En 16 campos agrícolas cultivados con maíz en fase vegetativa se seleccionaron al azar cinco plantas por campo, y se extrajeron aproximadamente 200 g de raíces y suelo rizosférico a una profundidad de 20 a 25 cm (Figura 2); totalizando 80 muestras. Cada muestra fue depositada en bolsas plásticas debidamente etiquetadas (Figura 3) e inmediatamente transportada para su procesamiento en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque.

c. Aislamiento de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar

Cada una de las muestras de raíces y suelo rizosférico se depositaron en bandejas de plástico, se tomaron 10 g (raíces y suelo adherido) por muestra, se llevaron a frascos de vidrio de 250 mL conteniendo 90 mL de solución salina estéril (NaCl 0,89 %, p/v) y se agitaron manualmente durante 20 minutos para obtener una suspensión de suelo que a su vez constituyó la dilución 10^{-1} ; con la que se realizó una dilución adicional 10^{-2} (Figura 4).

De la última dilución se tomó una alícuota y se sembró (Figura 5) mediante la técnica de agotamiento y estría en placas de Petri con agar para aislamiento de microorganismos solubilizadores de fósforo SRSM (Sundara Rao Sinha Medium) con roca fosfórica de Bayóvar (30 % P_2O_5) (Anexo 2a), como fuente de fósforo (16,67 g/L). Las placas de Petri fueron incubadas a 28 °C por 24 horas y fueron seleccionadas como solubilizadoras de roca fosfórica las colonias donde se observó el viraje del indicador al color amarillo (Figura 6). Después de realizar una tinción de Gram para determinar la morfología celular y reacción a la coloración (Figura 7), las colonias fueron cultivadas en viales (Figura 8) con agar tripticasa soya (Anexo 2b) a 28 °C durante 24 horas, obteniendo cultivos puros para su mantenimiento en refrigeración (8 °C).



Figura 2. Extracción de raíces y suelo rizosférico a una profundidad de 20 a 25 cm.



Figura 3. Muestra de raíces y suelo rizosférico de *Zea mays* L. “maíz” para el aislamiento de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar.

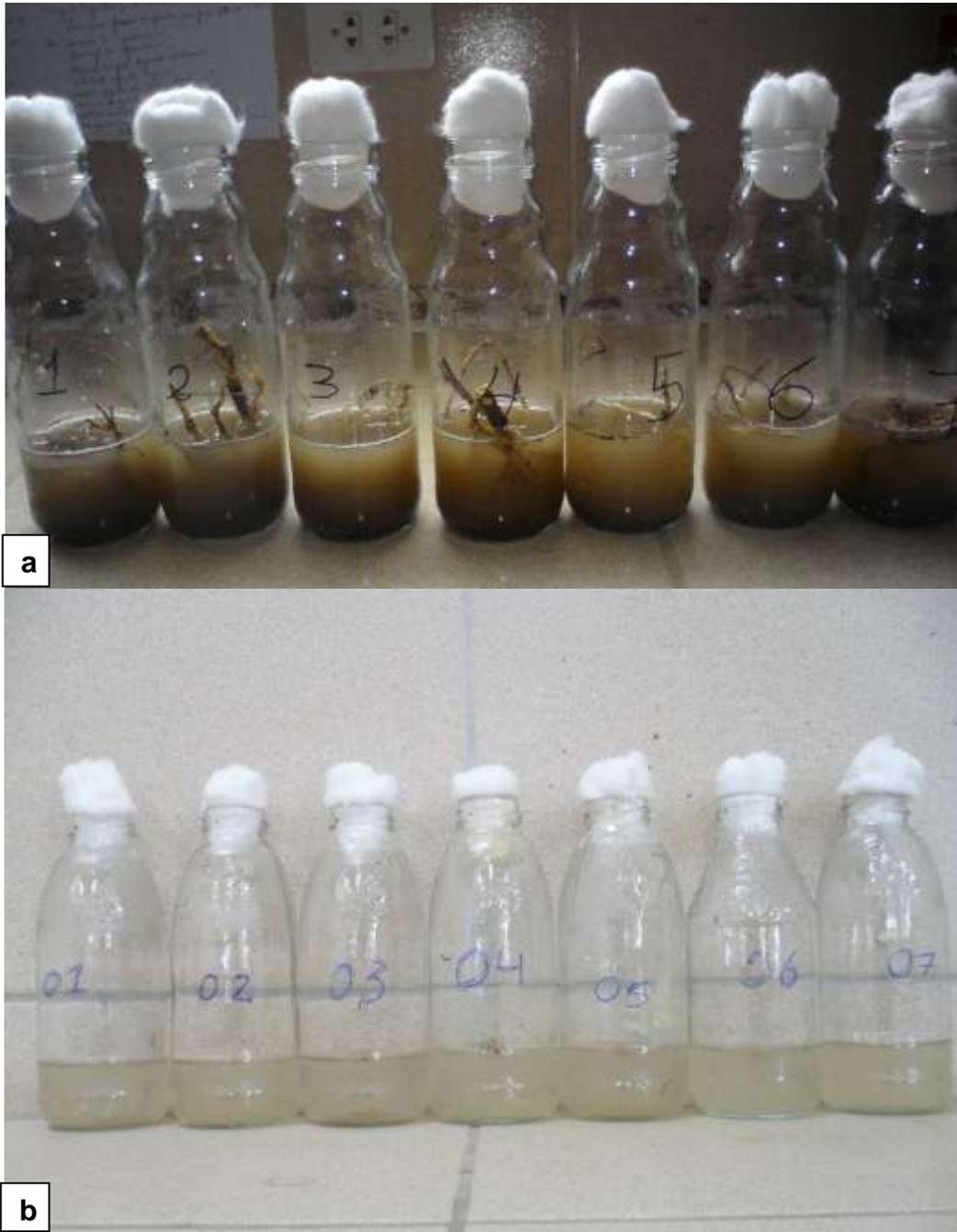


Figura 4. (a) Muestras de raíces y suelo rizosférico (10 g) en 90 mL de solución salina (NaCl 0,89 %, p/v) estéril (dilución 10^{-1}) y **(b)** dilución 10^{-2} .



Figura 5. Siembra en agar SRSM con roca fosfórica de Bayóvar como fuente de fósforo.

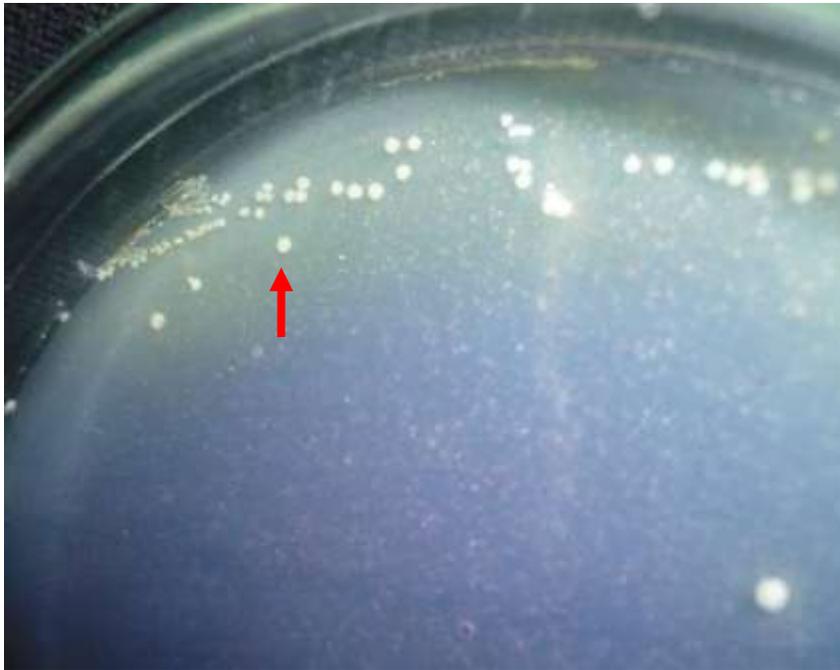


Figura 6. Colonias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar, aisladas en agar SRSM a 28 °C durante 24 horas.

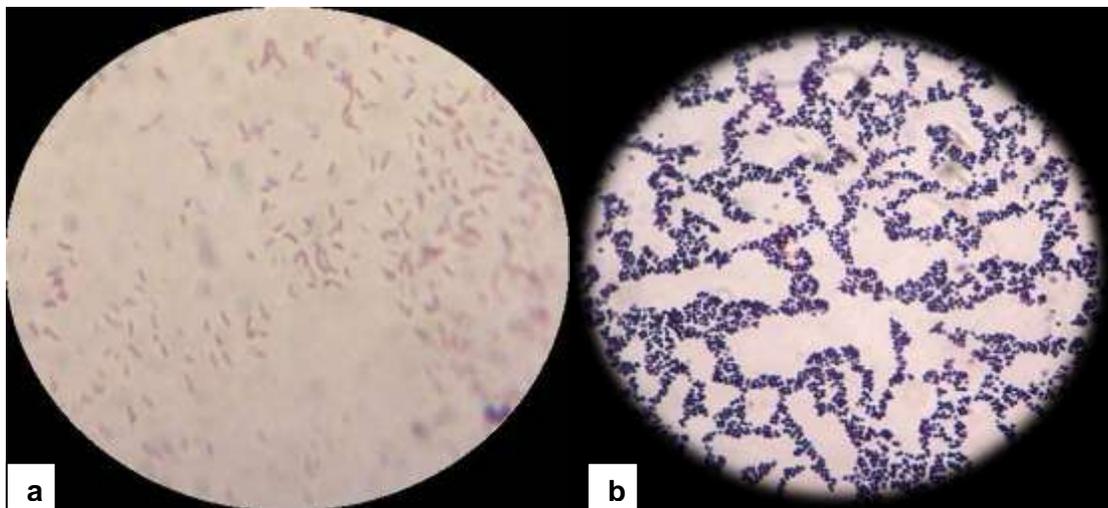


Figura 7. Observación microscópica de **a)** bacilos Gram negativos y **b)** cocos Gram positivos (100X).



Figura 8. Bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar cultivadas en agar tripticasa soya.

d. Solubilización de roca fosfórica *in vitro* por bacterias nativas (Vásquez *et al.*, 2000)

Cada una de las bacterias nativas fue cultivada en viales con agar Tripticasa Soya a 30 °C durante 24 horas. Después se obtuvo una suspensión de cada uno de los cultivos en solución salina estéril (0,89 %, p/v), cosechando la biomasa desarrollada mediante un lavado con 10 mL de solución salina estéril y estandarizando la concentración con el tubo 01 del nefelómetro de Mc Farland

(3×10^8 células mL⁻¹) (Figura 9). A continuación se inocularon 25 mL de cada una de las suspensiones celulares en frascos con 225 mL de caldo SRSM–roca fosfórica de Bayóvar (Figura 10). Todos los cultivos fueron incubados a 28 °C durante 5 días. El control estuvo constituido por un frasco con caldo SRSM no inoculado.

Para cuantificar el fósforo solubilizado, a partir del momento de la inoculación (0 horas) y cada 24 horas hasta las 120 horas (5 días), se tomaron muestras de 20 mL (Figura 11) de los cultivos en donde se determinó el pH y se cuantificó el fósforo soluble (Figura 12) mediante el método colorimétrico del molibdato (Anexo 3). Los datos obtenidos se interpolaron en una recta patrón (Figura 46, Anexo 4); obtenida con diluciones de una solución de 2 mgL⁻¹ de fósforo (Figura 47, Anexo 5).

e. Cálculo de la eficiencia de solubilización de roca fosfórica *in vitro*

El cálculo de la eficiencia de solubilización de roca fosfórica *in vitro* se realizó considerando como sustrato inicial la concentración de fósforo contenida en el medio de cultivo caldo SRSM modificado (0,834 g de roca fosfórica por litro, equivalente a 100 ppm) (Anexo 2 c), como sustrato final la concentración de fósforo no solubilizado remanente en el medio de cultivo (después de restar el valor máximo de fósforo soluble) y aplicando la siguiente ecuación mencionada por Becerra y Gil (2009):

$$E = \frac{S_i - S_f}{S_i} \times 100$$

Donde:

E = Eficiencia de solubilización de fosfato (%)

S_i = Concentración de fósforo a la entrada (Influyente)

S_f = Concentración de fósforo a la salida (Efluente)



Figura 9. Suspensión acuosa de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar estandarizada con la concentración del tubo 01 del nefelómetro de Mc Farland.



Figura 10. Frascos con 225 mL de caldo SRSM – roca fosfórica de Bayóvar.



Figura 11. Caldo SRSM cultivado con bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar.

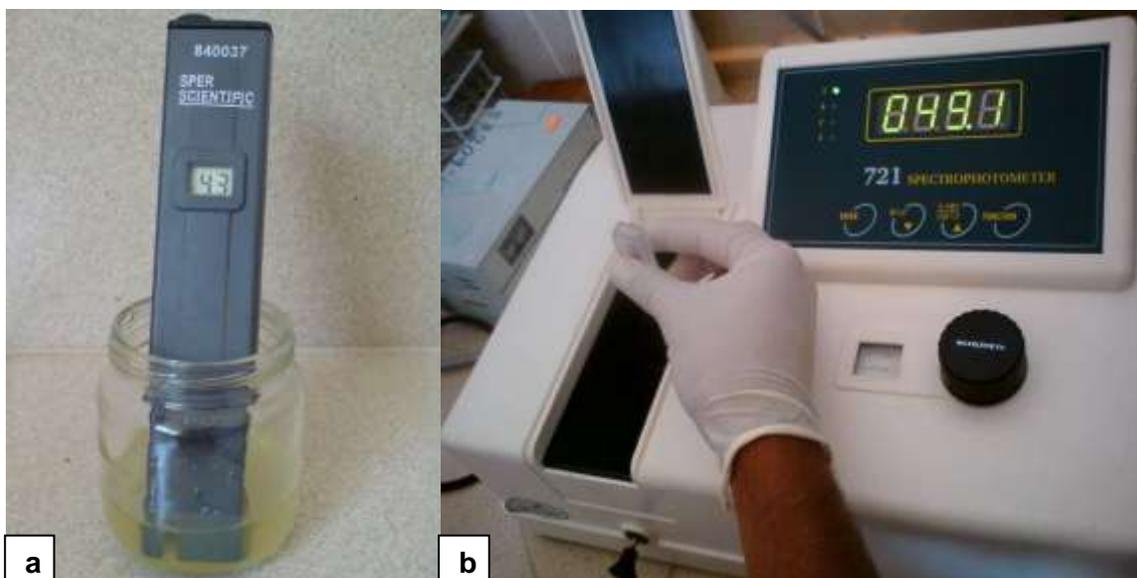


Figura 12. (a) Determinación de pH y **(b)** cuantificación el fósforo soluble.

La eficiencia de solubilización de roca fosfórica de cada una de las bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica se expresó en porcentaje. Para estudiar la cinética de la solubilización diaria de roca fosfórica de Bayóvar fueron seleccionados los nueve aislamientos que alcanzaron los mayores valores en la eficiencia de solubilización.

f. Selección de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar

Para la fase experimental del trabajo fueron seleccionadas las tres bacterias que alcanzaron los valores mayores en la eficiencia de solubilización de roca fosfórica de Bayóvar (CD052, PM114 y PM099), además la CD044 que incrementó en el menor tiempo la concentración de fósforo soluble del caldo SRSM.

g. Identificación de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar

La identificación de las cuatro bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar seleccionadas fue realizada en función a las características morfológicas y fisiológicas según el Manual de Bergey de Bacteriología Determinativa de Holt *et al.*, 1994 (Anexo 6).

3.2.4. Segunda Fase: Efecto de la inoculación de cuatro bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en el desarrollo vegetativo de maíz amarillo duro variedad Marginal 28–T mejorado, en condiciones de invernadero

a. Ubicación del experimento

El cultivo de maíz amarillo duro variedad Marginal 28–T mejorado y la inoculación de cuatro bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar

se realizó en el invernadero de la facultad de Agronomía, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, región Lambayeque.

b. Época de la instalación del cultivo

El cultivo de maíz amarillo duro variedad Marginal 28–T mejorado en invernadero, se realizó desde enero hasta abril de 2011.

c. Recolección de análisis físico-químico del suelo experimental

En 16 campos agrícolas comerciales del distrito de Reque, se recolectaron 48 submuestras de suelo de 2 Kg cada una, a una profundidad de 30 cm y en diversos puntos (zig-zag) de los campos agrícolas (tres muestras por campo). Las submuestras fueron mezcladas entre sí para obtener un total de 96 Kg de suelo y se tomó 1 Kg para realizar la caracterización físico-química en el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Según los resultados (Tabla 1), el suelo es medianamente alcalino (pH 7,69) y poco salino (CE 2,24 mmhos cm^{-1}) con una textura franco areno–arcilloso, un contenido medio de materia orgánica (2,3 %), nitrógeno (0,103 %), fósforo disponible (5,9 ppm) y de potasio (300,0 ppm).

Después de la caracterización, el suelo fue tamizado (malla de 0,16 mm), esterilizado en autoclave a 121 °C, 1 atmósfera de presión durante 3 horas (Díaz *et al.*, 2001); y fue distribuido en macetas de arcilla de 2,5 Kg de capacidad.

Tabla 1. Análisis físico-químico del suelo experimental de Reque. Lambayeque, Enero 2011

Clase textural	pH	CE (mmhos cm⁻¹)	MO (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)
Fr.Ar.Ao	7,69	2,24	2,3	0,103	5,9	300,0

Métodos empleados

- Textura** : Método de Bouyoucos
pH : Extracto de saturación: Potenciómetro
Conductividad eléctrica : Extracto de saturación: Conductímetro
Materia orgánica : Método Walkey y Black
Nitrógeno : Método de Kjeldahl
Fósforo disponible : Método Olsen modificado
Potasio disponible : Fotometría

d. Registro de temperatura

Durante los meses de enero hasta abril, la temperatura promedio en el invernadero fue de 30,5 °C con un valor máximo de 33 °C y un mínimo de 28 °C.

e. Características de la especie vegetal cultivada

Se sembraron semillas de maíz amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado cuyo periodo vegetativo es de 110 a 120 días en verano y de 130 a 140 días en invierno, su grano es amarillo rojizo y se adapta a toda la costa y zonas tropicales y subtropicales del Perú (Ministerio de Agricultura, 2010).

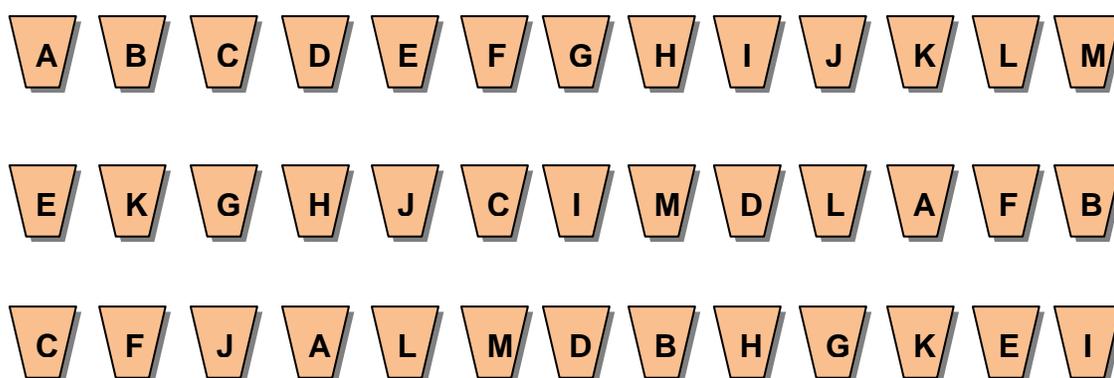
f. Tratamientos en estudio y diseño experimental

El trabajo de investigación se realizó utilizando el diseño experimental completamente aleatorio (DCA), con 13 tratamientos y tres repeticiones, constituyendo 39 unidades experimentales (Figura 13). Los tratamientos correspondieron a: aplicación de cada una de las cuatro bacterias nativas solubilizadoras (cepas UNPRG CD044, UNPRG CD052, UNPRG PM099 y UNPRG PM114) junto a roca fosfórica de Bayóvar; un consorcio de las cuatro bacterias nativas solubilizadoras mas roca fosfórica de Bayóvar. Los ocho tratamientos restantes constituyeron los testigos: cuatro aplicados con cada una de las bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar, un consorcio de estas cuatro bacterias, dos testigos químicos (fertilizante roca fosfórica de Bayóvar y fertilizante fosfato diamónico) y un testigo absoluto (sin bacterias y sin fertilización química).

g. Tratamiento de las semillas

La semilla de maíz utilizada es comercializada luego de ser tratada con el

fungicida Tiofanate metil–Tiram (Homai W.P) a dosis de 2 g Kg⁻¹ de semilla, para la protección frente a los hongos causantes de la chupadera fungosa (Figura 14).



- A:** Aislamiento UNPRG CD044+ roca fosfórica de Bayóvar
- B:** Aislamiento UNPRG CD052+ roca fosfórica de Bayóvar
- C:** Aislamiento UNPRG PM099 + roca fosfórica de Bayóvar
- D:** Aislamiento UNPRG PM114 + roca fosfórica de Bayóvar
- E:** Consorcio + roca fosfórica de Bayóvar
- F:** Aislamiento UNPRG CD044
- G:** Aislamiento UNPRG CD052
- H:** Aislamiento UNPRG PM099
- I:** Aislamiento UNPRG PM114
- J:** Consorcio
- K:** Roca fosfórica de Bayóvar

L: Fosfato diamónico

M: Testigo absoluto

Figura 13. Modelo de diseño experimental completamente aleatorio (DCA) para determinar el efecto de cuatro bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en el desarrollo vegetativo de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado en invernadero.



Figura 14. Semillas de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado.

h. Siembra de la especie vegetal

En cada una de las 39 macetas conteniendo suelo tratado y distribuidos según el diseño experimental fueron sembradas cuatro semillas de maíz a una

profundidad de 3 cm del suelo con una distancia de 5 cm (Figura 15).

i. Inoculación de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en la rizósfera de maíz

Para la obtención del inóculo definitivo cada una de las cuatro bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar seleccionadas fueron cultivadas en 100 mL de caldo nutritivo, a 28 °C, en agitación constante (150 rpm) durante 24 horas (Figura 16). A continuación cada uno de los cultivos fue centrifugado (2500 rpm) y el sedimento celular obtenido fue lavado con solución salina estéril por dos veces consecutivas para luego resuspenderlo en la misma solución y estandarizar su concentración con el tubo 01 del nefelómetro de Mc Farland (3×10^8 células mL⁻¹).

A la emergencia de las plántulas, después de 7 días de la siembra del maíz, se procedió a eliminar las menos vigorosas dejando dos plántulas por maceta (Figura 17), inoculándose posteriormente las bacterias solubilizadoras en la rizósfera, retirando cuidadosamente el suelo hasta descubrir las raíces en cuatro puntos equidistantes de la planta y depositando un total de 10 mL de inóculo bacteriano previamente estandarizado (Figura 18).

Según los tratamientos en estudio se aplicaron 0,848 g de roca fosfórica de Bayóvar (30 % P₂O₅) por maceta correspondientes a 100 kg P ha⁻¹ (Anexo 7) y fosfato diamónico (18 % N - 46 % P) por maceta correspondientes a 217 KgP ha⁻¹. Los fertilizantes fueron aplicados inmediatamente después de la inoculación bacteriana en un surco de 5 cm de profundidad ubicado a 10 cm de las raíces de las plantas (Figura 19).



Figura 15. Siembra de cuatro semillas de maíz a una profundidad de 3 cm del suelo con un distanciamiento de 5 cm.



Figura 16. Bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar cultivadas en 100 mL de caldo nutritivo, a 28 °C, en agitación constante (150 rpm) durante 24 horas



Figura 17. Eliminación de las plantas de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado menos vigorosas.



Figura 18. Inoculación de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en la rizósfera de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado.

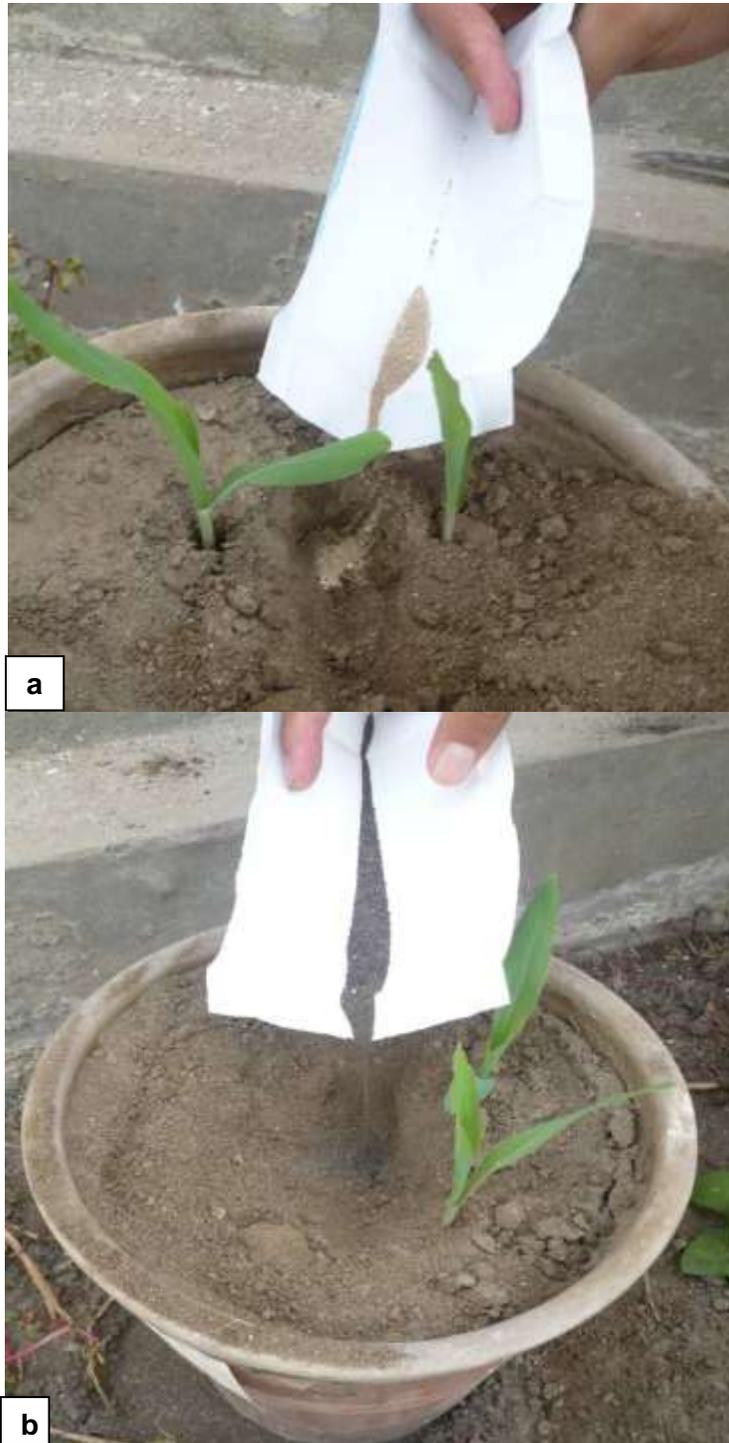


Figura 19. Aplicación de **(a)** roca fosfórica de Bayóvar y **(b)** fosfato diamónico.

j. Manejo del cultivo

Se aplicaron riegos de acuerdo a los requerimientos del cultivo, evitando el exceso de agua para no tener problemas radiculares y periódicamente se procedió a limpiar las macetas eliminando manualmente las malezas. Asimismo se controló el *Grillus assimilis* “grillo” con una aplicación de Lorsban 4E (clorpirifos) a la dosis de 800 mL ha⁻¹.

k. Evaluaciones realizadas

Se midió la altura (cm) de las plantas cada 10 días después de la inoculación bacteriana. A los 74 días después de la siembra, se determinó la altura máxima (cm) de las plantas (Figura 20), el volumen radicular (cm³) (Figura 21), peso de la biomasa seca de la parte aérea y de la parte radicular (Figura 22), diámetro del tallo (cm).

La altura de la planta fue expresada en centímetros, considerando desde la base del tallo de la planta hasta la yema terminal. A continuación, la parte aérea de cada una de las plantas fue cortada con tijeras en la base del tallo y el suelo adherido junto a las raíces fueron depositados en bandejas de plástico.

Para determinar el volumen radicular, las raíces fueron lavadas con agua potable para eliminar el suelo adherido y después fueron depositados en un beacker con 500 cm³ de agua. El volumen desplazado constituyó el volumen de la raíz expresado en cm³.

Para determinar el peso de la materia seca, tanto la biomasa aérea como la radicular fueron deshidratadas en horno a 70 °C durante 72 horas hasta alcanzar un peso constante. El peso de la materia seca se determinó en una balanza digital.

I. Análisis estadístico

Previo al análisis estadístico se realizó la prueba de normalidad de los datos que es una de las asunciones principales del análisis de varianza en la

aplicación de la estadística paramétrica, de tal manera que los resultados de los análisis tengan validez estadística y se pueda llevar a cabo el proceso de inferencia a partir de la muestra.



Figura 20. Medición de la altura máxima (cm) de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado.



Figura 21. Medición del volumen radicular (cm^3) de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado.



Figura 22. Peso (g) de la biomasa seca de la **(a)** parte aérea y de la **(b)** parte radicular.

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

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

Donde:

Y_{ij} = observación del i -ésimo tratamiento, j -ésima repetición

u = media general de la variable respuesta

t_i = efecto del i -ésimo tratamiento, siendo $i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13$

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

Para la comparación de medias de los tratamientos la prueba de hipótesis fue:

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7 = \mu_8 = \mu_9 = \mu_{10} = \mu_{11} = \mu_{12} = \mu_{13}$$

b

H_a = Al menos una media diferente

Se realizó el análisis de varianza para cada característica y la superioridad entre los tratamientos en invernadero se determinó mediante la prueba múltiple de Tukey, con un nivel de significancia de 0,05 (Hernández *et al.*, 2003). En el presente trabajo se utilizó el software estadístico SPSS versión 15.0 así como los programas Microsoft Office Word y Excel versión 2007.

IV. RESULTADOS

4.1 Bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar aisladas en raíces y suelo rizosférico de *Zea mays* L. “maíz” en el distrito de Reque, Lambayeque, 2010

El 67,5 % (54) de las muestras raíces y suelo rizosférico de maíz resultó positivo para el aislamiento de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar (Tabla 2), obteniéndose 126 cultivos puros de bacterias, de los que 56,35 % correspondió a bacterias Gram positivas y 43,65 % a Gram negativas (Figura 23). Las bacterias seleccionadas se desarrollaron en agar SRSM con roca fosfórica, como fuente de fósforo, y después de 24 horas de incubación se observó el viraje del indicador púrpura de bromocresol hacia el amarillo; sin embargo, no se observaron los típicos halos de solubilización de fósforo (Figura 24).

Entre los 126 cultivos puros de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar (Tabla 3) se observaron bacilos Gram positivos (35,71 %), bacilos Gram negativos (30,95 %), cocos Gram positivos (14,29 %), cocobacilos Gram negativos (9,52 %), cocobacilos Gram positivos (6,35 %) y cocos Gram negativos (3,18 %).

Tabla 2. Presencia (%) de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en muestras de raíces y suelo rizosférico de *Zea mays* L. “maíz” en el distrito de Reque, Lambayeque, 2010

Campo agrícola (Nº)	Presencia		Ausencia	
	(Nº muestras)	(%)	(Nº muestras)	(%)
1	3	3,75	2	2,50
2	4	5,00	1	1,25
3	3	3,75	2	2,50
4	3	3,75	2	2,50
5	4	5,00	1	1,25
6	3	3,75	2	2,50
7	2	2,50	3	3,75
8	4	5,00	1	1,25
9	3	3,75	2	2,50
10	4	5,00	1	1,25
11	3	3,75	2	2,50
12	4	5,00	1	1,25
13	4	5,00	1	1,25
14	3	3,75	2	2,50
15	3	3,75	2	2,50
16	4	5,00	1	1,25
Total	54	67,5	26	32,5

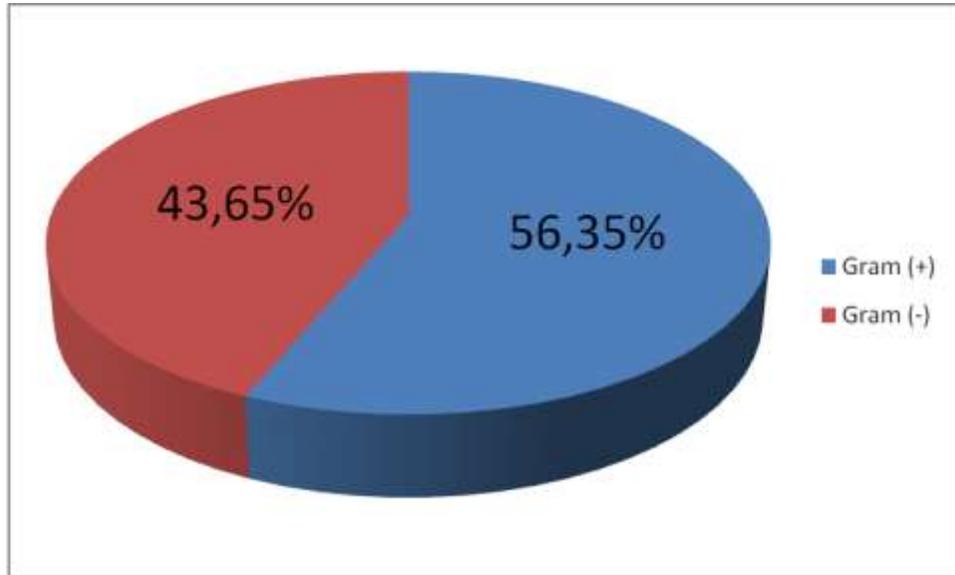


Figura 23. Porcentaje de bacterias Gram positivas y Gram negativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar aisladas de raíces y suelo rizosférico de *Zea mays* L. “maíz” en el distrito de Reque, Lambayeque, 2010.



Figura 24. Bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en agar SRSM con roca fosfórica después de 24 horas de incubación.

Tabla 3. Frecuencia (%) de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar según morfología y reacción tintorial, aisladas de raíces y suelo rizosférico de *Zea mays* L. “maíz” en el distrito de Reque, Lambayeque, 2010

Morfología	Reacción a la tinción de Gram	Nº	%
Bacilos	Gram positivos	45	35,71
Bacilos	Gram negativos	39	30,95
Cocos	Gram positivos	18	14,29
Cobacilos	Gram negativos	12	9,52
Cobacilos	Gram positivos	8	6,35
Cocos	Gram negativos	4	3,18

4.2 Eficiencia de solubilización de roca fosfórica de Bayóvar *in vitro* por bacterias nativas

Para las condiciones del presente estudio se cuantificó fósforo soluble en el 71,43 % (90) de aislamientos de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar con valores en la eficiencia de solubilización que oscilaron entre 0,31 y 49,21 mg L⁻¹ para los aislamientos UNPRG CD058 y CD052 respectivamente (Anexo 8). En el 28,57 % (36) de las bacterias nativas no se pudo cuantificar

fósforo soluble. Asimismo se midió el pH en los caldos SRSM cultivados con los 126 aislamientos (Anexo 9) y se determinó la eficiencia (Anexo 10).

Para estudiar la cinética diaria de la solubilización de roca fosfórica de Bayóvar fueron seleccionados nueve aislamientos de bacterias debido a que alcanzaron los mayores valores en la eficiencia de solubilización de roca fosfórica de Bayóvar. Se observó que la concentración de fósforo soluble se incrementó en los caldos SRSM cultivados con las bacterias nativas frente al testigo caldo SRSM no inoculado, donde el valor se mantuvo constante (Tabla 4). El valor máximo fue de 49,21 mg L⁻¹ con UNPRG CD052 y el mínimo fue 4,84 mg L⁻¹ con UNPRG PM114 después de 120 y 24 horas de incubación respectivamente. Así mismo el pH disminuyó hasta 4,7 a partir de las 48 horas (Tabla 5).

Según las variaciones de la concentración de fósforo soluble se observaron dos comportamientos en las bacterias nativas. Con UNPRG CD052, PM114, PM099, PM070 y PM067 el fósforo soluble se incrementó hasta alcanzar un valor máximo después de 120 horas (Figuras 25, 26, 27, 28, 29). Por su parte, con UNPRG CD042, CD038, CD057 y CD044 el fósforo soluble se incrementó hasta alcanzar un valor máximo a las 72 horas (CD042 y CD044) y 96 horas (CD038 y CD057) y después disminuyó notablemente (Figuras 30, 31 32, 33).

La eficiencia de solubilización de roca fosfórica de Bayóvar osciló entre 38,50 y 49,21 % para UNPRG CD044 y CD052 respectivamente (Tabla 6). Para la fase experimental del trabajo fueron seleccionadas las bacterias UNPRG CD052, PM114 y PM099 porque alcanzaron los mayores valores en la eficiencia en la eficiencia correspondientes a 49,21; 45,09 y 44,27 % respectivamente, así como UNPRG CD044 por alcanzar el mayor valor en el incremento de fósforo soluble en el menor tiempo (Tabla 4). Estas bacterias fueron identificadas como *Enterobacter* sp. CD052, *Micrococcus* sp. PM114 y *Acinetobacter* spp. PM099 y CD044.

Tabla 4. Valores promedios de la concentración de fósforo soluble (mgL⁻¹) en

caldo SRSM cultivado con nueve aislamientos de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar

Aislamiento bacteriano código UNPRG	Tiempo de incubación (horas)				
	24	48	72	96	120
CD052	13,50	23,94	39,87	47,70	49,21
PM114	4,84	17,21	27,10	27,37	45,09
PM099	8,97	20,64	24,76	26,41	44,27
PM070	5,12	13,09	17,89	24,76	41,11
CD042	5,67	12,67	39,05	35,75	13,22
PM067	5,67	11,03	13,36	17,21	39,05
CD038	9,24	8,00	15,97	38,91	13,91
CD057	14,73	19,41	31,63	38,91	14,46
CD044	32,04	33,09	38,50	35,75	17,21
Testigo	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabla 5. Valores promedios del pH en caldo SRSM cultivado con nueve aislamientos de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar

Aislamiento bacteriano código UNPRG	Tiempo de incubación (horas)				
	24	48	72	96	120
CD052	4,8	4,5	4,5	4,5	4,3
PM114	4,8	4,7	4,7	4,7	4,7
PM099	4,6	4,7	4,7	4,7	4,7
PM070	4,8	4,7	4,7	4,7	4,6
CD042	5,5	4,9	4,9	4,8	4,8
PM067	4,8	4,7	4,7	4,7	4,7
CD038	5,5	5,2	5,2	5,2	5,2
CD057	5,5	5,5	5,7	5,3	5,3

CD044	5,5	5,2	5,2	5,0	5,0
Testigo	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5

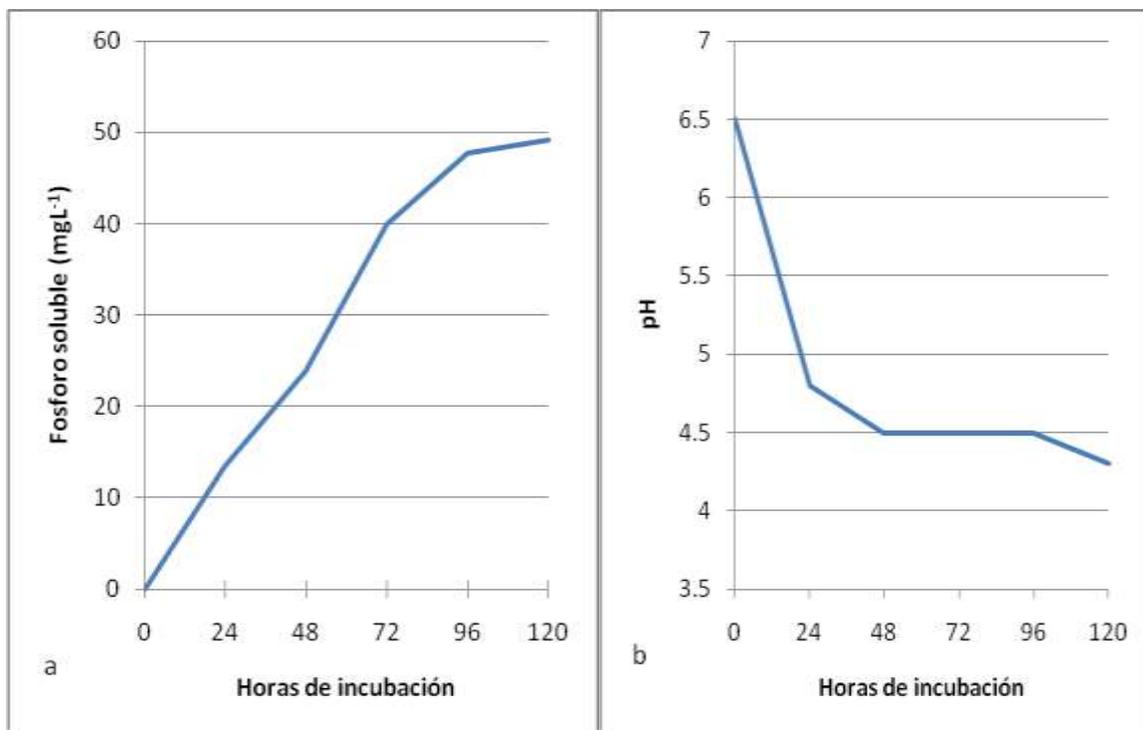


Figura 25. Variaciones de la concentración de fósforo soluble (a) y pH (b) en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG CD052.

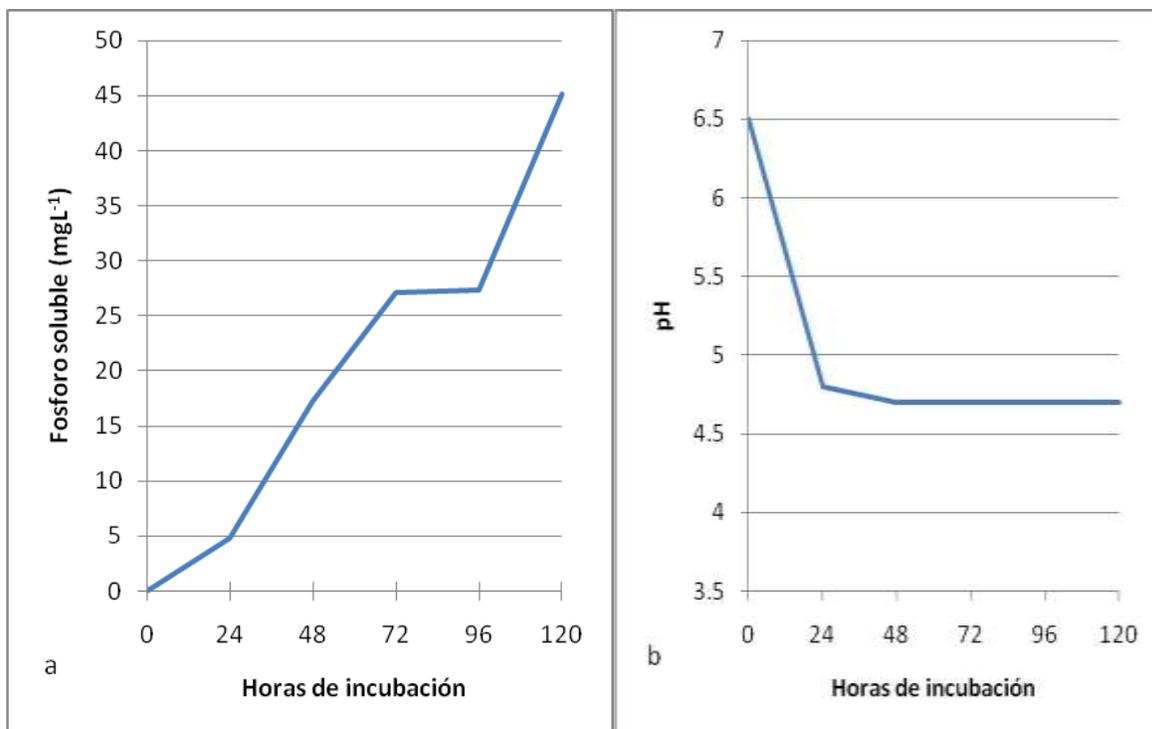


Figura 26. Variaciones de la concentración de fósforo soluble (a) y pH (b) en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG PM114.

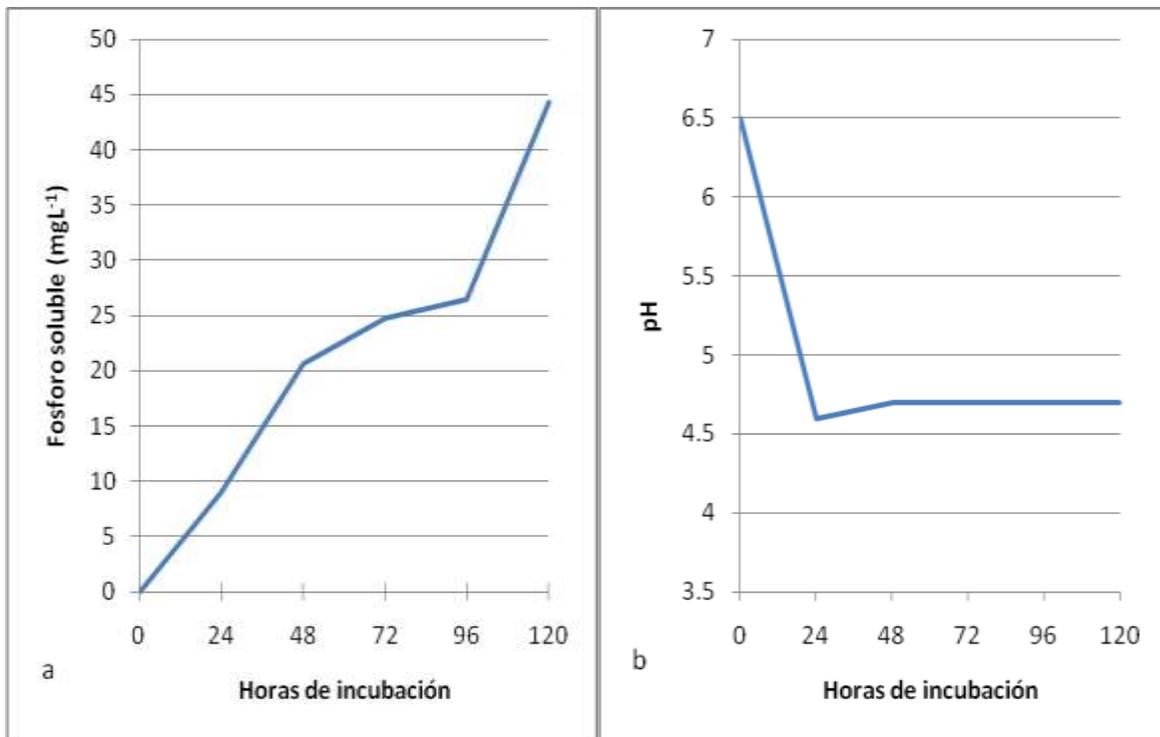


Figura 27. Variaciones de la concentración de fósforo soluble (a) y pH (b) en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG PM099.

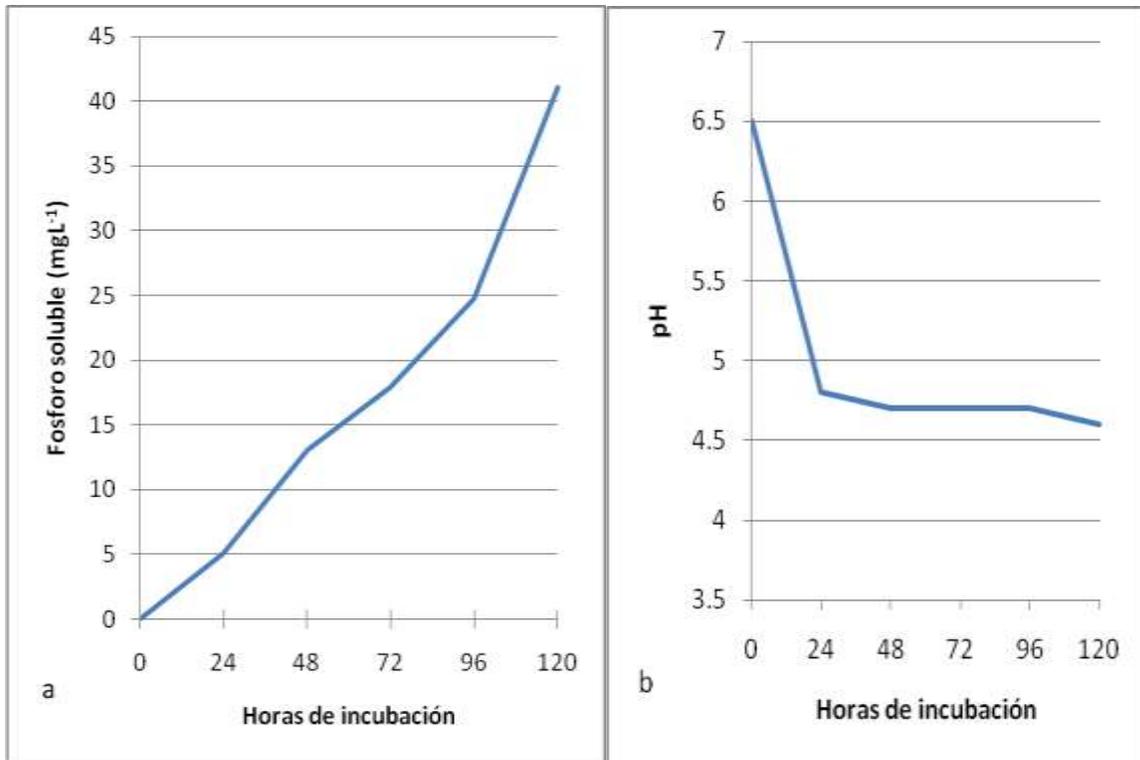


Figura 28. Variaciones de la concentración de fósforo soluble (a) y pH (b) en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG PM070.

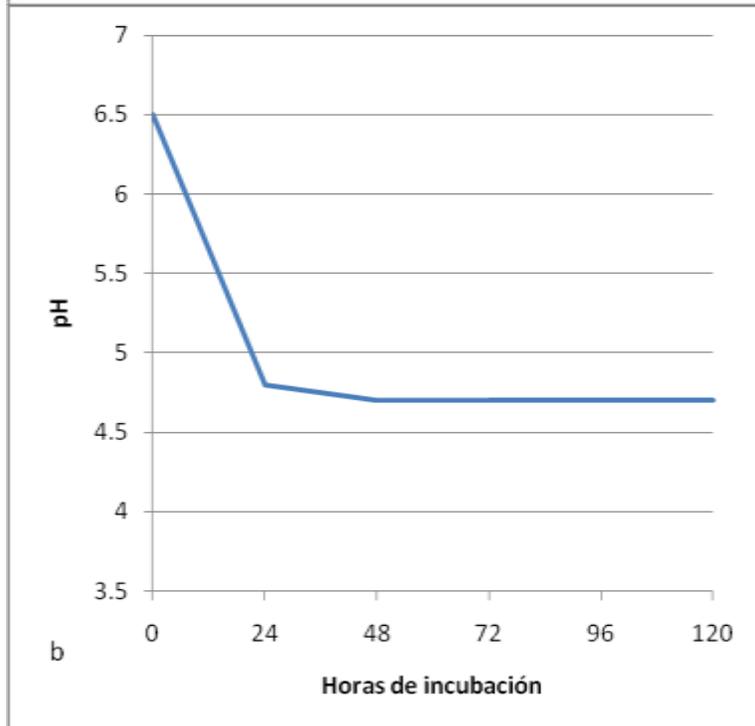
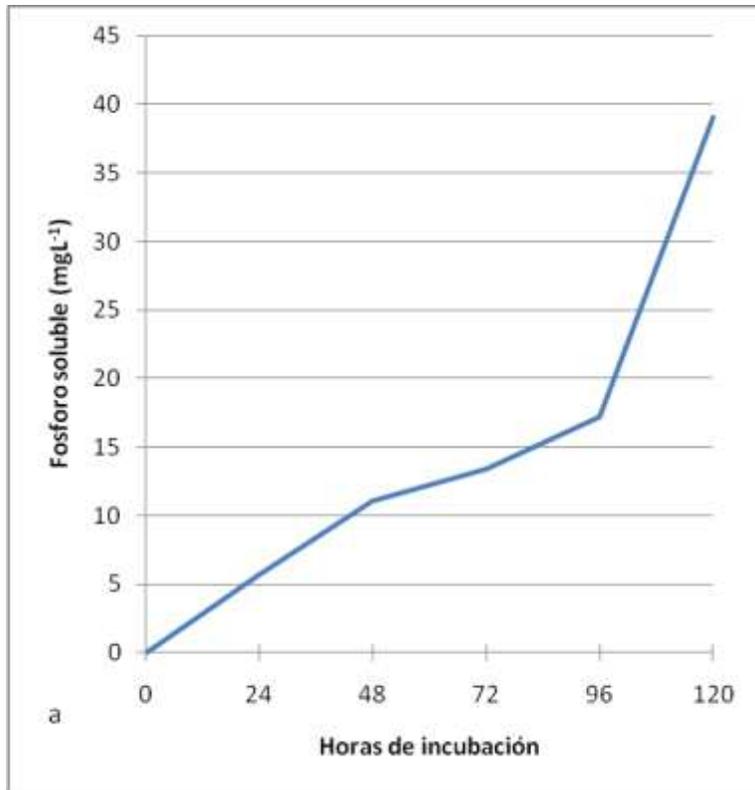


Figura 29. Variaciones de la concentración de fósforo soluble (a) y pH (b) en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG PM067.

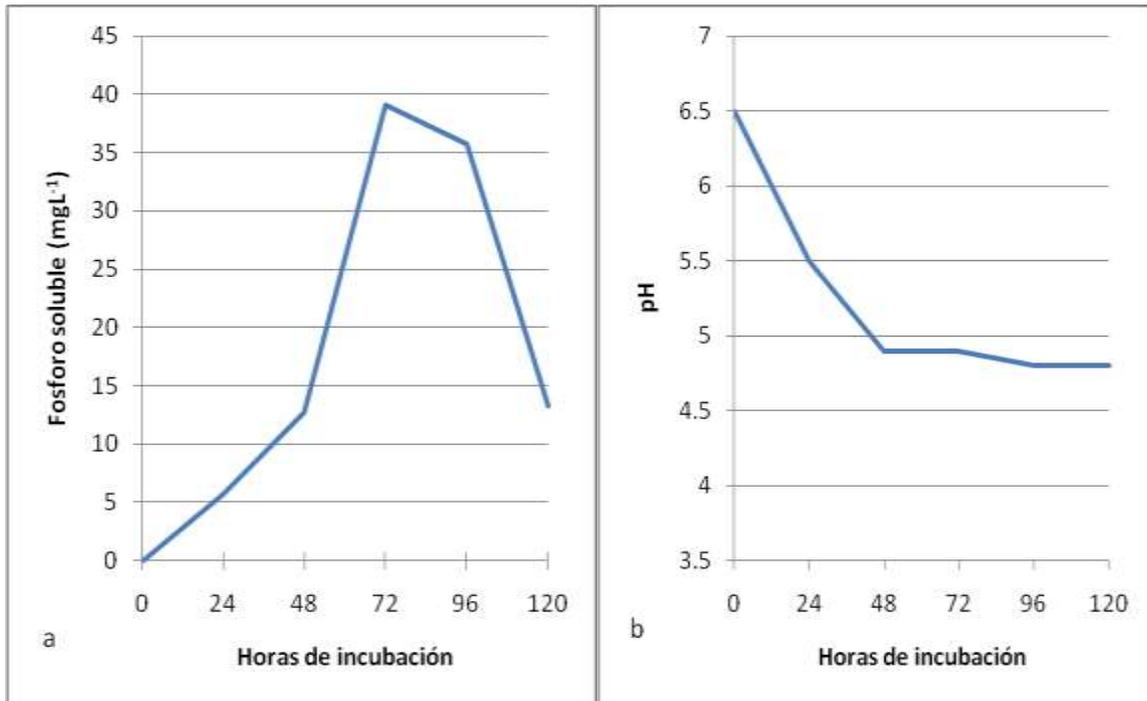


Figura 30. Variaciones de la concentración de fósforo soluble (a) y pH (b) en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG CD042.

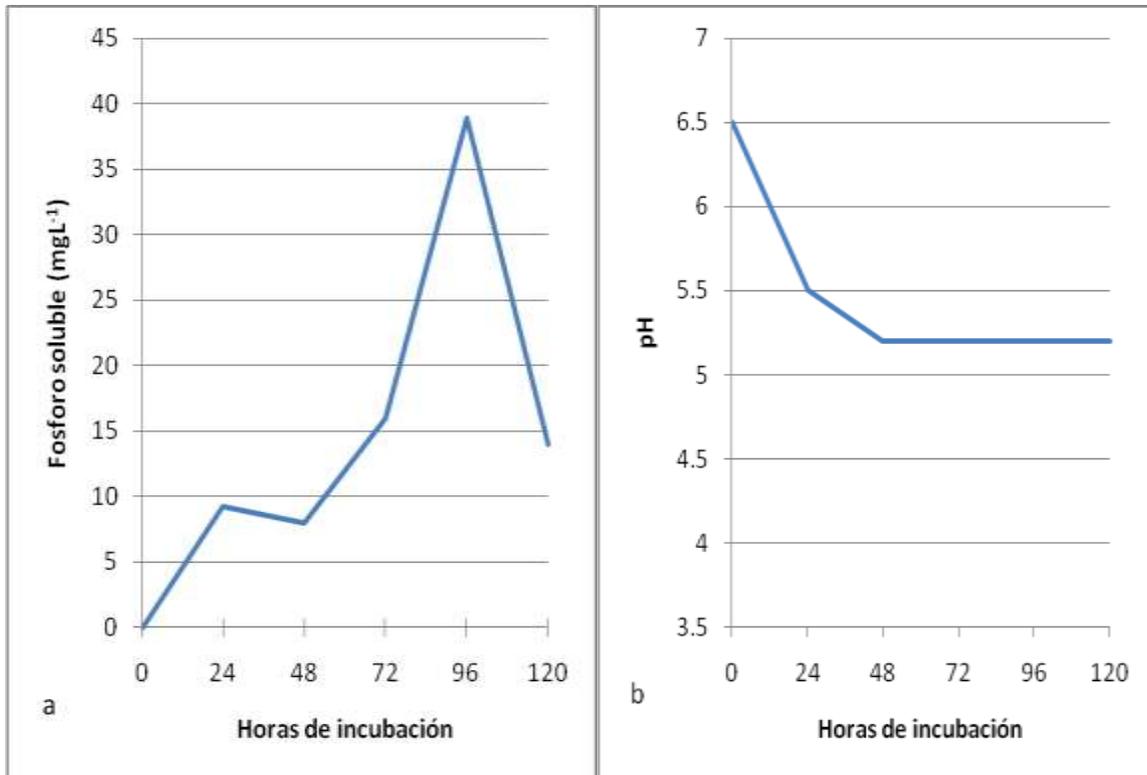


Figura 31. Variaciones de la concentración de fósforo soluble (a) y pH (b) en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG CD038.

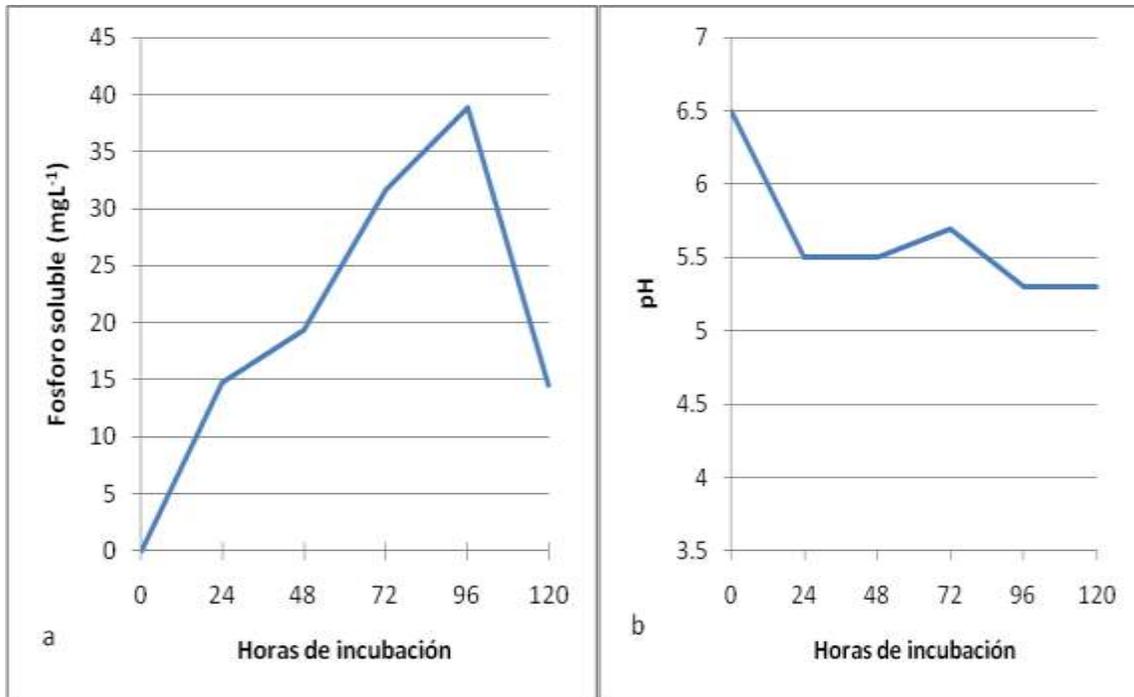


Figura 32. Variaciones de la concentración de fósforo soluble (a) y pH (b) en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG CD057.

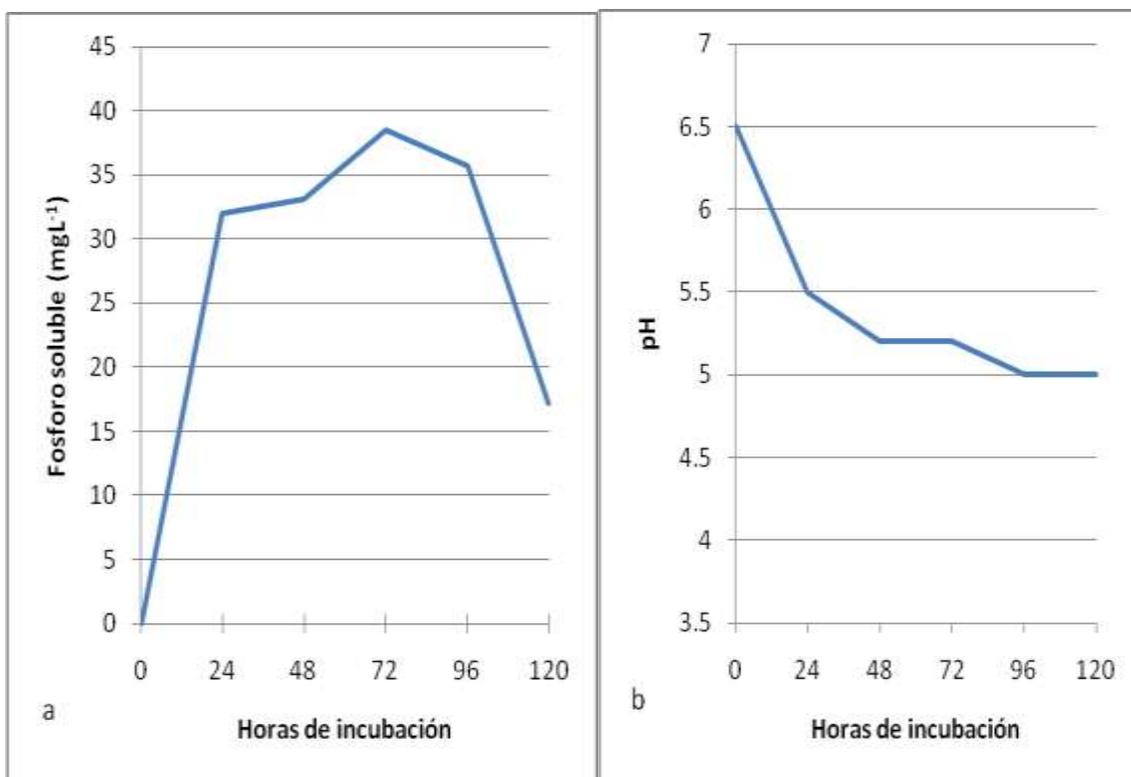


Figura 33. Variaciones de la concentración de fósforo soluble (a) y pH (b) en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG CD044.

Tabla 6. Eficiencia (%) de solubilización de roca fosfórica de Bayóvar *in vitro* de nueve aislamientos de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar ($P_i = 100$ ppm)

Aislamiento	Tiempo	Fósforo solubilizado	P_f	Eficiencia
-------------	--------	----------------------	-------	------------

bacteriano código UNPRG	(horas)	(mgL⁻¹)		(%)
CD052	120	49,21	50,79	49,21
PM114	120	45,09	54,91	45,09
PM099	120	44,27	55,73	44,27
PM070	120	41,11	58,89	41,11
CD042	120	39,05	60,95	39,05
PM067	72	39,05	60,95	39,05
CD038	96	38,91	61,09	38,91
CD057	96	38,91	61,09	38,91
CD044	72	38,50	61,50	38,50

4.3 Efecto de la inoculación en la rizósfera de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar sobre el desarrollo vegetativo de *Zea mays* L. “maíz” en condiciones de invernadero

Las bacterias solubilizadoras de fósforo aplicadas en conjunto con la roca fosfórica influenciaron positivamente el desarrollo de las plantas de maíz amarillo

duro variedad marginal 28-T, en condiciones de invernadero, incrementando la altura (*Acinetobacter* sp. CD044, *Enterobacter* sp. CD052, *Acinetobacter* sp. PM099 y *Micrococcus* sp. PM114); así como el peso aéreo (*Enterobacter* sp. CD052, *Acinetobacter* sp. PM099 y *Micrococcus* sp. PM114), volumen radicular (*Acinetobacter* sp. CD044 y *Enterobacter* sp. CD052), peso radicular (*Enterobacter* sp. CD052 y *Acinetobacter* sp. PM099) y diámetro del tallo (*Enterobacter* sp. CD052 y *Micrococcus* sp. PM114) y alcanzando valores superiores a los del testigo roca fosfórica. También se observó que *Enterobacter* sp. CD052 más roca fosfórica superó a las demás en todos los tratamientos y cuando las cuatro bacterias fueron aplicadas en consorcio junto a la roca fosfórica el efecto positivo se evidenció en todas las plantas, superando a los testigos roca fosfórica y fosfato diamónico (Figuras 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40).

Todas las bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar inoculadas en forma aislada o en consorcio incrementaron la altura de las plantas de maíz frente al testigo absoluto e incluso frente a los testigos roca fosfórica y fosfato diamónico (Figura 41). Asimismo, como se observa en las figuras 42, 43, 44, 45, incrementaron el peso aéreo y radicular (*Acinetobacter* sp. CD044, *Micrococcus* sp. PM114 y el consorcio), volumen radicular (*Acinetobacter* spp. CD044 y PM099, consorcio) y diámetro del tallo (*Acinetobacter* sp. PM099).

Para contrastar la normalidad de los datos se trabajó con los valores de altura, materia seca de la parte aérea y radicular, volumen radicular y diámetro del tallo de plantas de maíz de los 13 tratamientos.

La hipótesis para la prueba de normalidad para cada uno de los casos fue H_0 : los datos siguen una distribución normal vs. H_1 : los datos no siguen una distribución normal. Cuando los puntos se ubicaron en el cinturón se aceptó la hipótesis nula, indicando que las muestras así como la población de la que provienen tienen distribución normal.

Para la prueba de homogeneidad de varianzas la hipótesis planteada fue H_0 : las varianzas son homogéneas vs. H_a : las varianzas no son homogéneas.



Figura 34. Parte aérea de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro var. Marginal 28-T mejorado después de la aplicación conjunta de bacterias y roca fosfórica **(a)** *Acinetobacter* sp. CD044, **(b)** *Enterobacter* sp. CD052, **(c)** *Acinetobacter* sp. PM099, **(d)** *Micrococcus* sp. PM114, **(e)** testigo roca fosfórica.



Figura 35. Raíces de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro var. Marginal 28-T mejorado después de la aplicación conjunta de bacterias y roca fosfórica (a) *Acinetobacter* sp.CD044, (b) *Enterobacter* sp.CD052, (c) *Acinetobacter* sp. PM099, (d) *Micrococcus* sp. PM114, (e) testigo roca fosfórica.

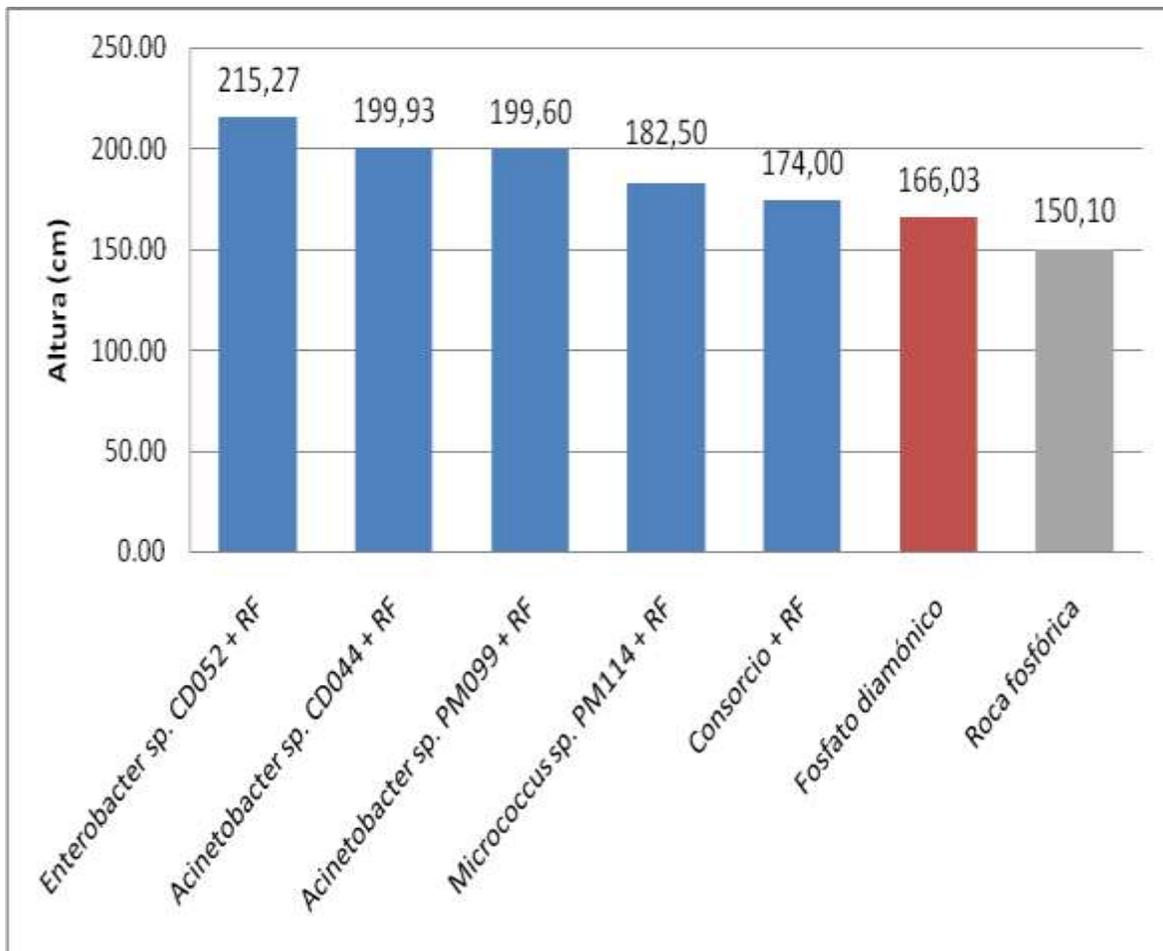


Figura 36. Valores promedios de altura (cm) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de la aplicación de bacterias solubilizadoras y roca fosfórica de Bayóvar frente a sus testigos químicos.

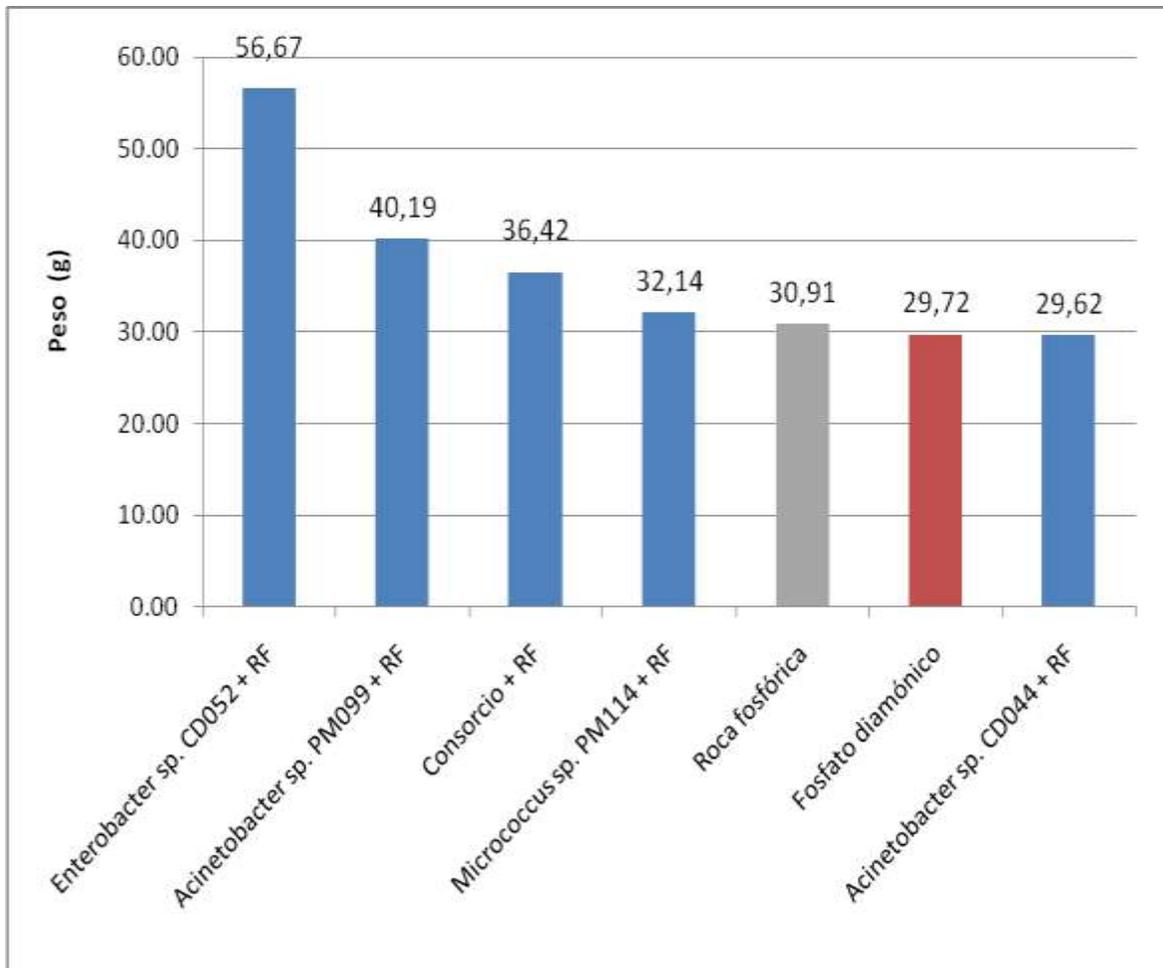


Figura 37. Valores promedios de peso aéreo (g) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de la aplicación de bacterias solubilizadoras y roca fosfórica de Bayóvar frente a sus testigos químicos.

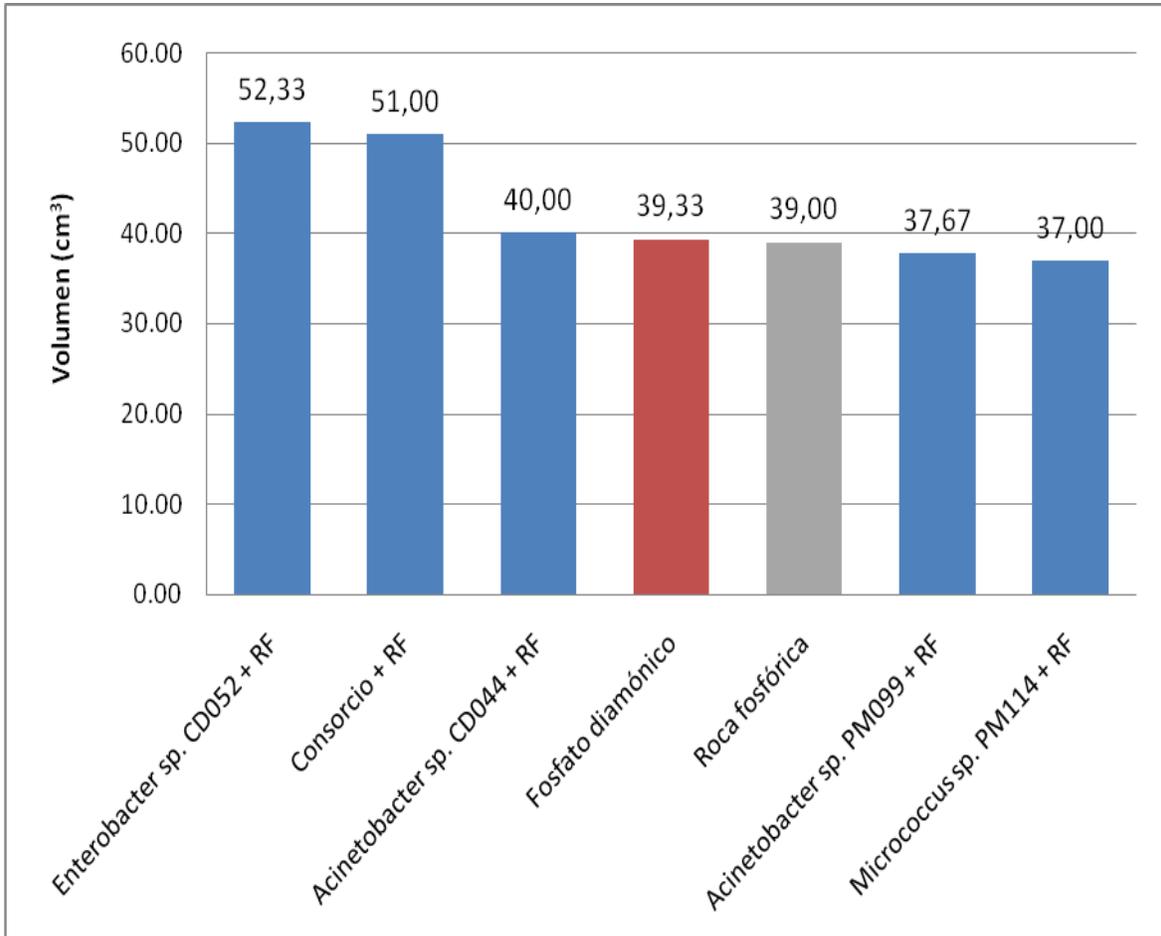


Figura 38. Valores promedios del volumen radicular (cm^3) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de la aplicación de bacterias solubilizadoras y roca fosfórica de Bayóvar frente a sus testigos químicos.

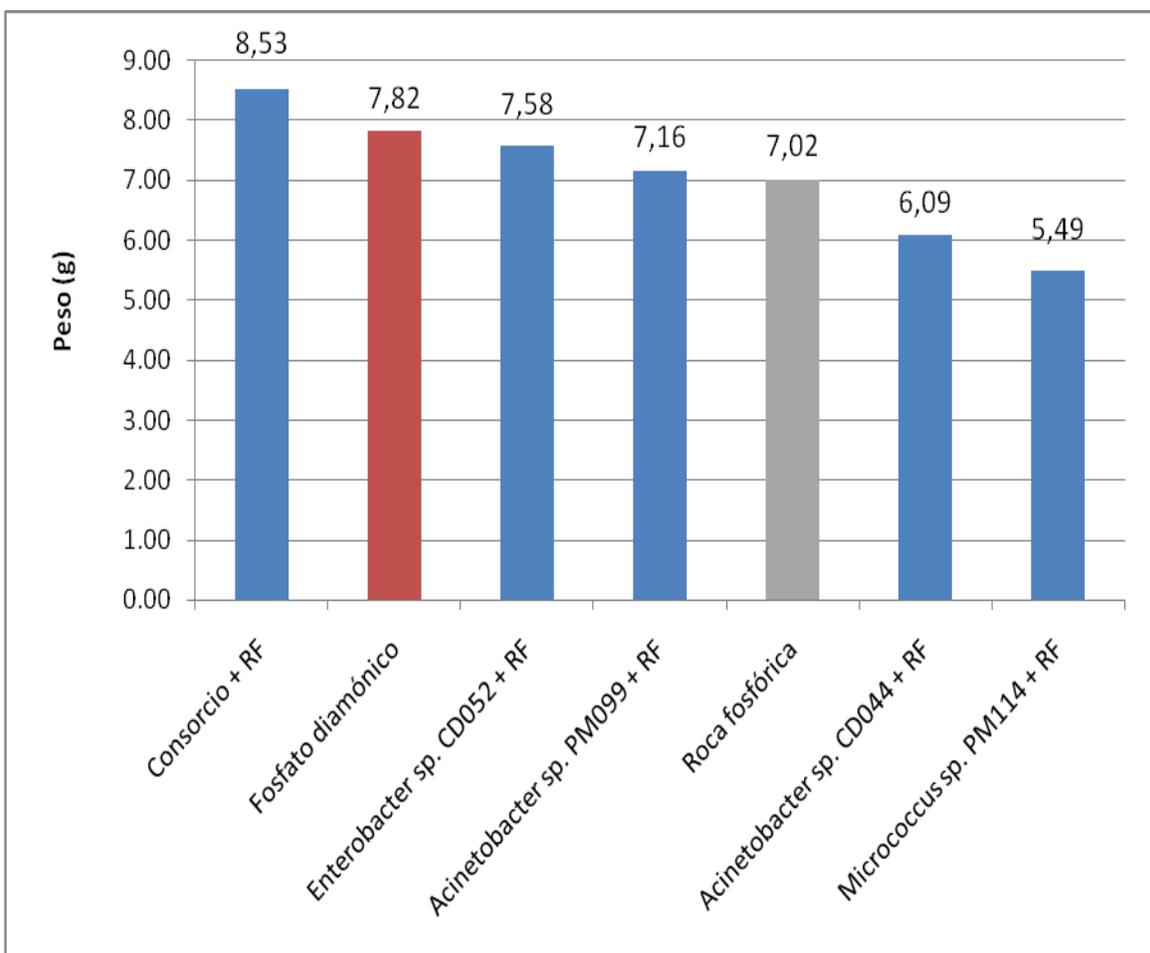


Figura 39. Valores promedios del peso radicular (g) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de la aplicación de bacterias

solubilizadoras y roca fosfórica de Bayóvar frente a sus testigos químicos.

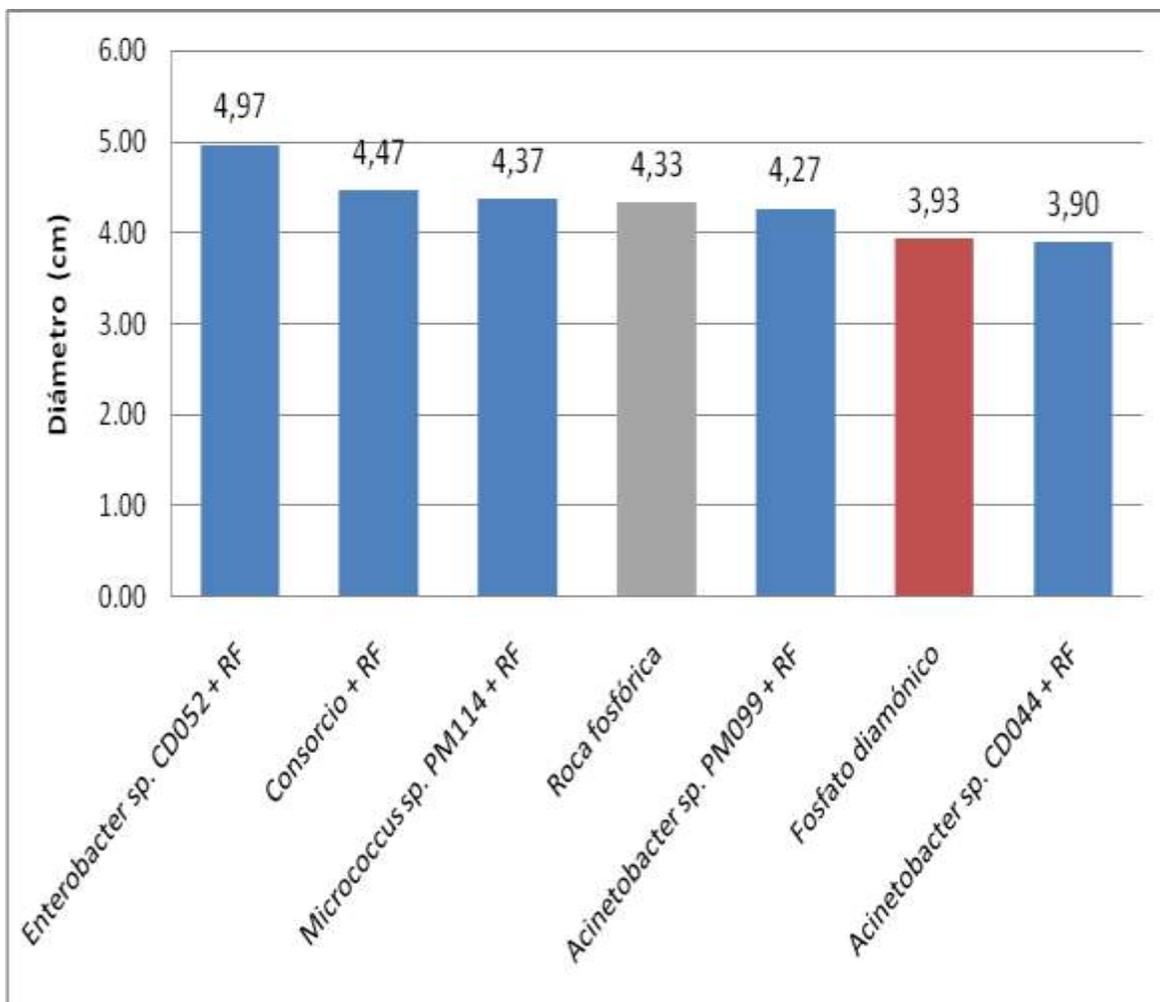


Figura 40. Valores promedios de diámetro del tallo (cm) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de la aplicación de bacterias solubilizadoras y roca fosfórica de Bayóvar frente a sus testigos químicos.

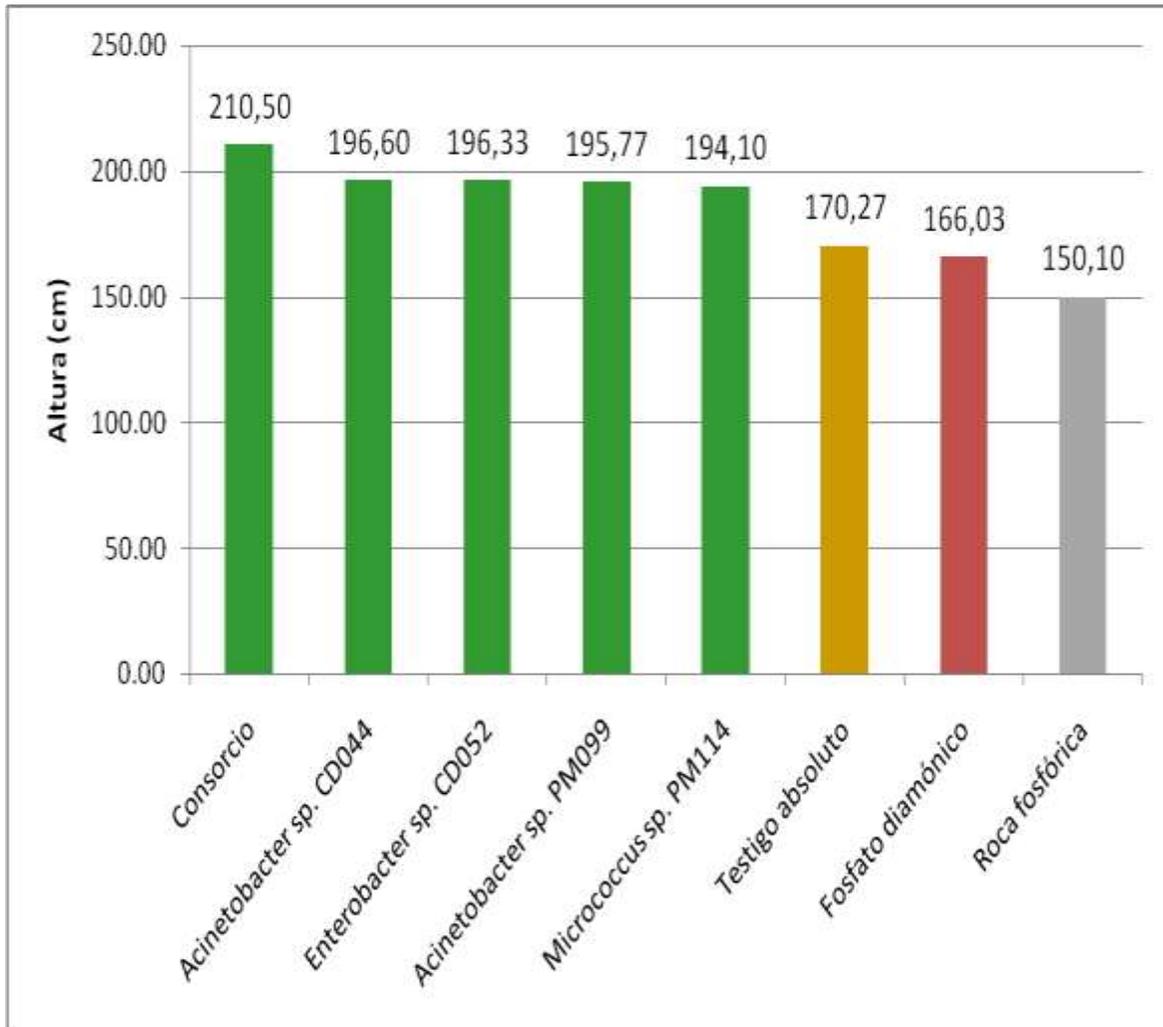


Figura 41. Valores promedios de altura (cm) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de cuatro cepas nativas de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en forma individual, consorcio y tres testigos en invernadero.

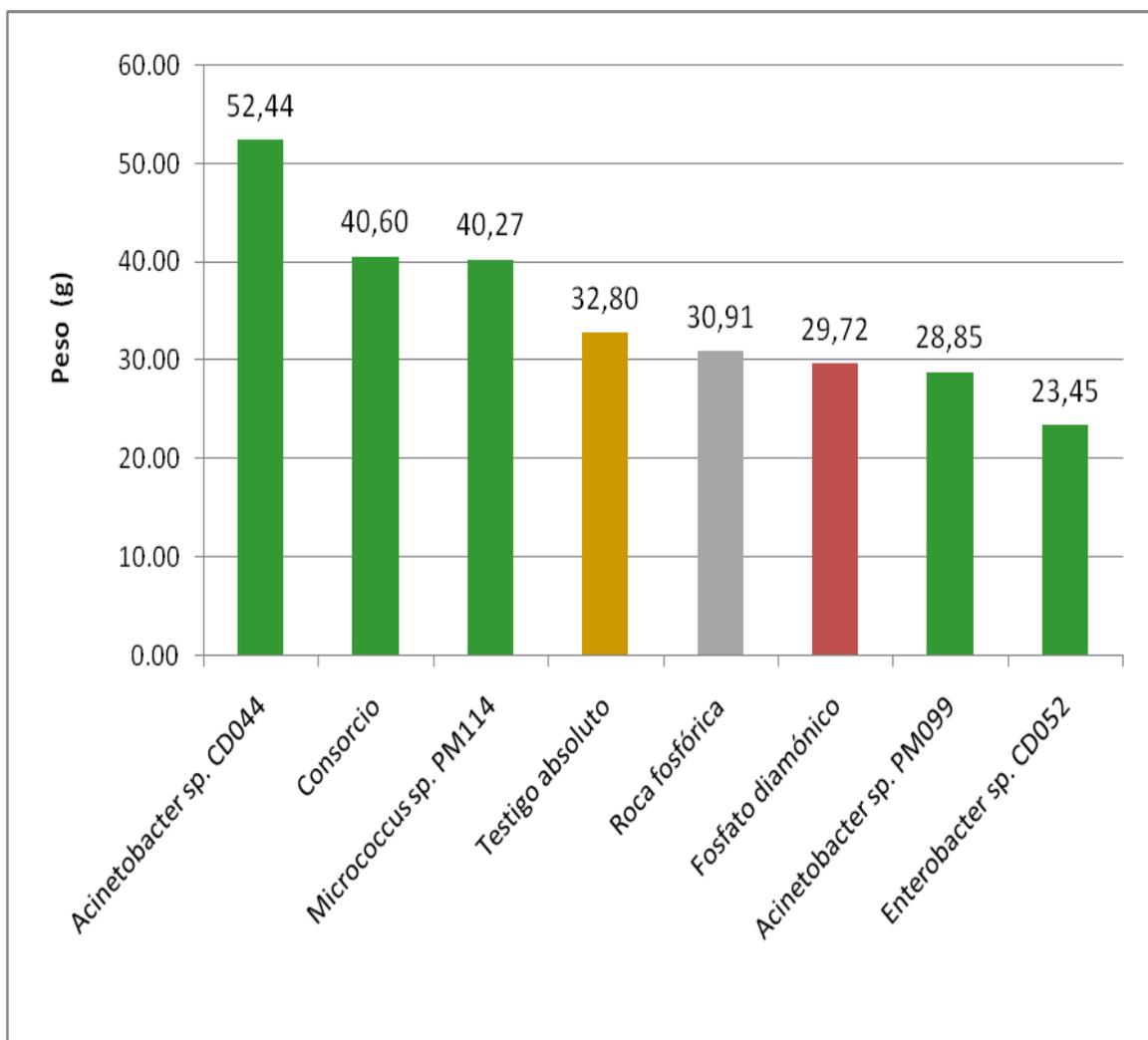


Figura 42. Valores promedios del peso aéreo (g) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de cuatro cepas nativas de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica d Bayóvar en forma individual, consorcio y tres testigos en invernadero.

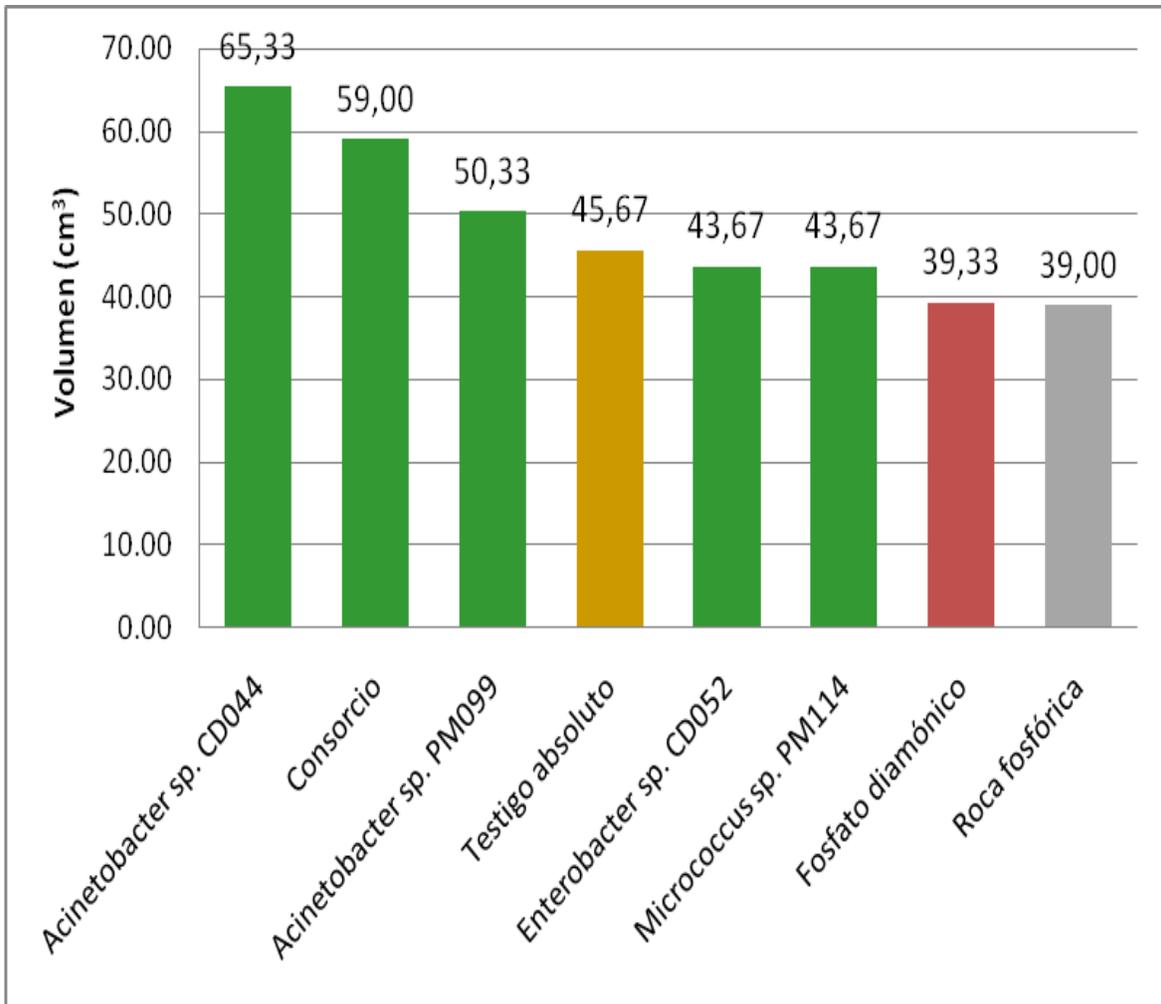


Figura 43. Valores promedios del volumen radicular (cm³) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de cuatro cepas nativas de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en forma individual, consorcio y tres testigos en invernadero.

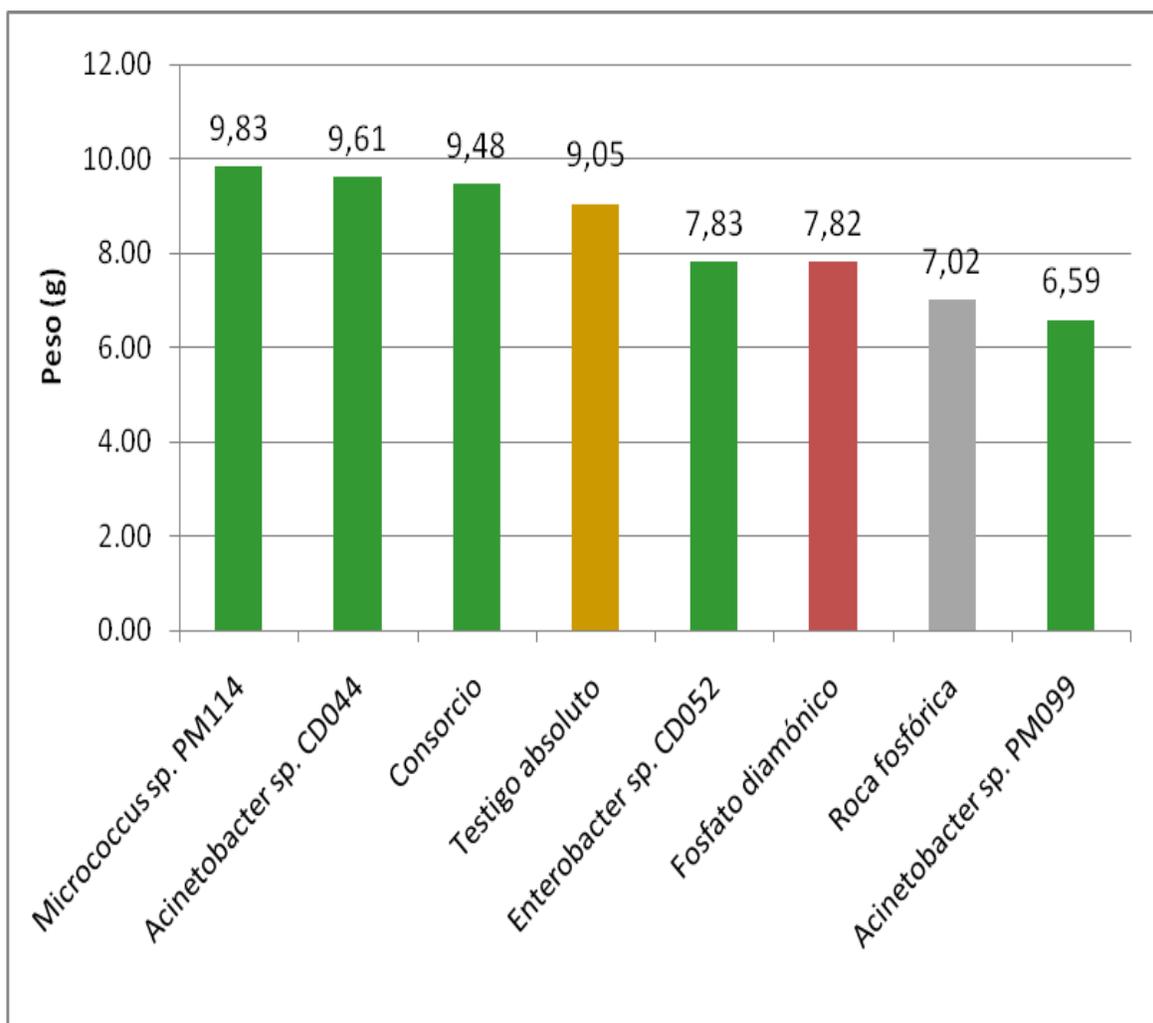


Figura 44. Valores promedios del peso radicular (g) al inicio de la floración de

Zea mays L. “maíz” por efecto de cuatro cepas nativas de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en forma individual, consorcio y tres testigos en invernadero.

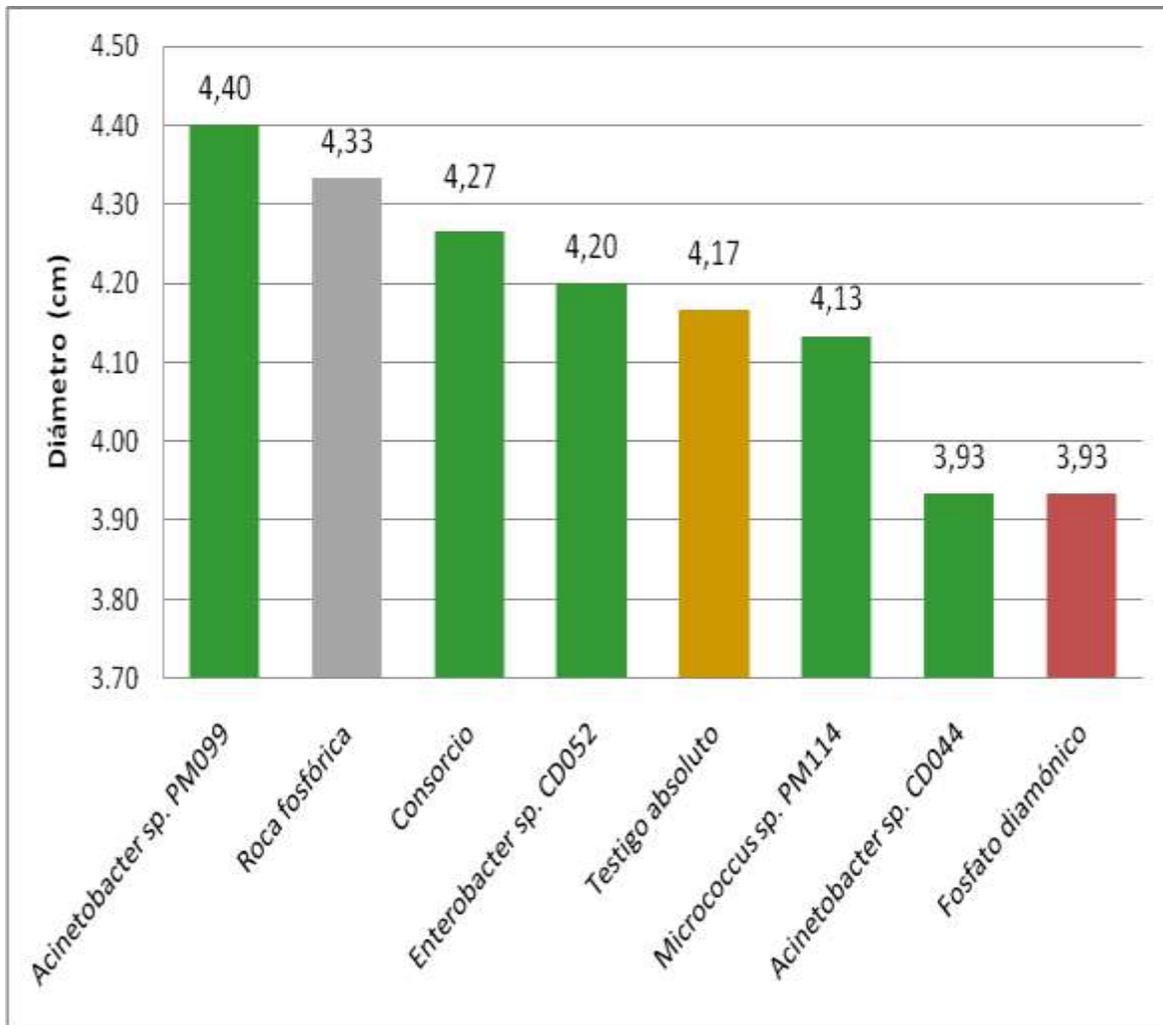


Figura 45. Valores promedios de diámetro del tallo (g) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de cuatro cepas nativas de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en forma individual, consorcio y tres testigos en invernadero.

Según el test de Bartlett, cuando los valores de “p” fueron mayores a 0,05 se aceptó la hipótesis nula indicando varianzas homogéneas.

El análisis estadístico de los datos obtenidos corroboró el efecto observado con los diferentes tratamientos en las variables estudiadas. Los valores promedios de la altura oscilaron entre 150,10 y 215,27 cm para el testigo roca fosfórica y *Enterobacter* sp. CD052 más roca fosfórica, respectivamente. La prueba “F” del análisis de varianza (Anexo 11) resultó altamente significativa, lo que demuestra que existió efecto de los tratamientos sobre la variable estudiada y según la prueba discriminadora de Tukey (Tabla 7) la mayor altura fue alcanzada con *Enterobacter* sp. CD052 más roca fosfórica, diferenciándose estadísticamente del testigo roca fosfórica.

Los valores promedios del peso de la parte aérea oscilaron entre 23,45 y 56,67 g para *Enterobacter* sp. CD052 sin y con roca fosfórica, respectivamente (Tabla 8). La prueba “F” del análisis de varianza (Anexo 12) resultó altamente significativa y según la prueba discriminadora de Tukey (Tabla 8) el mayor peso fue obtenido con *Enterobacter* sp. CD052 más roca fosfórica no diferenciándose significativamente de *Acinetobacter* sp. CD044.

Los valores promedios del volumen radicular oscilaron entre 37,00 y 65,33 cm³ para *Micrococcus* sp. PM114 más roca fosfórica y *Acinetobacter* sp. CD044, respectivamente (Tabla 9). La prueba “F” del análisis de varianza (Anexo 13) resultó altamente significativa y según la prueba discriminadora de Tukey (Tabla 9) el mayor volumen fue observado con *Acinetobacter* sp. CD044 no diferenciándose significativamente del consorcio.

Los valores promedios del peso radicular oscilaron entre 5,49 y 9,83 para *Micrococcus* sp. PM114 con y sin roca fosfórica, respectivamente (Tabla 10). La prueba “F” del análisis de varianza (Anexo 14) resultó altamente significativa y según la prueba discriminadora de Tukey (Tabla 10) el mayor peso radicular fue obtenido con *Micrococcus* sp. PM114 diferenciándose estadísticamente de la misma al aplicarle roca fosfórica.

Los valores promedios del diámetro del tallo oscilaron entre 3,90 y 4,97 para *Acinetobacter* sp. CD044 más roca fosfórica y *Enterobacter* sp. CD052 más roca,

respectivamente (Tabla 11). La prueba “F” del análisis de varianza (Anexo 15) resultó altamente significativa lo que demuestra que existió efecto de los tratamientos sobre la variable estudiada y según la prueba discriminadora de Tukey (Tabla 11) el mayor diámetro del tallo fue obtenido con *Enterobacter* sp. CD052 más roca diferenciándose significativamente de la misma sin aplicarle roca fosfórica.

Tabla 7. Prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) de la altura (cm) de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero

Tratamientos	Atura (cm)	Significancia		
<i>Enterobacter</i> sp. CD052 + Roca fosfórica	215,27	a		
Consortio	210,50	a	b	
<i>Acinetobacter</i> sp. CD044 + Roca fosfórica	199,93	a	b	c
<i>Acinetobacter</i> sp. PM099 + Roca fosfórica	199,60	a	b	c
<i>Acinetobacter</i> sp. CD044	196,60	a	b	c
<i>Enterobacter</i> sp. CD052	196,33	a	b	c
<i>Acinetobacter</i> sp. PM099	195,77	a	b	c
<i>Micrococcus</i> sp. PM114	194,10	a	b	c
<i>Micrococcus</i> sp. PM114 + Roca fosfórica	182,50	a	b	c
Consortio + Roca fosfórica	174,00		b	c d
Testigo absoluto	170,27			c d

Fosfato diamónico	166,03	c	d
Roca fosfórica	150,10		d

X = 188,538

ALS(T)0,05 = 36,668

Tabla 8. Prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) del peso aéreo (g) de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero

Tratamientos	Peso aéreo (g)	Significancia	
<i>Enterobacter</i> sp. CD052 + Roca fosfórica	56,67	a	
<i>Acinetobacter</i> sp. CD044	52,44	a	b
Consortio	40,60	b	c
<i>Micrococcus</i> sp. PM114	40,27	b	c
<i>Acinetobacter</i> sp. PM099 + Roca fosfórica	40,19	b	c

Consortio + Roca fosfórica	36,42	c	d
Testigo absoluto	32,80	c	d
<i>Micrococcus</i> sp. PM114 + Roca fosfórica	32,14	c	d
Roca fosfórica	30,91	c	d
Fosfato diamónico	29,72	c	d
<i>Acinetobacter</i> sp. CD044 + Roca fosfórica	29,62	c	d
<i>Acinetobacter</i> sp. PM099	28,85	c	d
<i>Enterobacter</i> sp. CD052	23,45		d

X = 36,468

ALS(T)0,05 = 13,401

Tabla 9. Prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) del volumen radicular (cm^3) de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero

Tratamientos	Volumen radicular (cm^3)	Significancia
--------------	-------------------------------------	---------------

<i>Acinetobacter</i> sp. CD044	65,33	a		
Consorcio	59,00	a	b	
<i>Enterobacter</i> sp. CD052 + Roca fosfórica	52,33		b	c
Consorcio + Roca fosfórica	51,00		b	c
<i>Acinetobacter</i> sp. PM099	50,33		b	c
Testigo absoluto	45,67			c d
<i>Enterobacter</i> sp. CD052	43,67			c d
<i>Micrococcus</i> sp. PM114	43,67			c d
<i>Acinetobacter</i> sp. CD044 + Roca fosfórica	40,00			d
Fosfato diamónico	39,33			d
Roca fosfórica	39,00			d
<i>Acinetobacter</i> sp. PM099 + Roca fosfórica	37,67			d
<i>Micrococcus</i> sp. PM114 + Roca fosfórica	37,00			d

X = 46,462

ALS(T)0,05= 10,044

Tabla 10. Prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) del peso radicular (g) de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias

nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero

Tratamientos	Peso radicular (g)	Significancia
<i>Micrococcus</i> sp. PM114	9,83	a
<i>Acinetobacter</i> sp. CD044	9,61	a b
Consortio	9,48	a b
Testigo absoluto	9,05	a b c
Consortio + Roca fosfórica	8,53	a b c d
<i>Enterobacter</i> sp. CD052	7,83	a b c d e
Fosfato diamónico	7,82	a b c d e
<i>Enterobacter</i> sp. CD052 + Roca fosfórica	7,58	b c d e f
<i>Acinetobacter</i> sp. PM099 + Roca fosfórica	7,16	c d e f
Roca fosfórica	7,02	c d e f
<i>Acinetobacter</i> sp. PM099	6,59	d e f
<i>Acinetobacter</i> sp. CD044 + Roca fosfórica	6,09	e f
<i>Micrococcus</i> sp. PM114 + Roca fosfórica	5,49	f

X = 7,851

ALS(T)0,05 = 2,119

Tabla 11. Prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) del diámetro del tallo (cm) de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero

Tratamientos	Diámetro del tallo	
	(cm)	Significancia
<i>Enterobacter</i> sp. CD052 + Roca fosfórica	4,97	a
Consortio + Roca fosfórica	4,47	a b
<i>Acinetobacter</i> sp. PM099	4,40	b c
<i>Micrococcus</i> sp. PM114 + Roca fosfórica	4,37	b c
Roca fosfórica	4,33	b c
<i>Acinetobacter</i> sp. PM099 + Roca fosfórica	4,27	b c
Consortio	4,27	b c
<i>Enterobacter</i> sp. CD052	4,20	b c
Testigo absoluto	4,17	b c
<i>Micrococcus</i> sp. PM114	4,13	b c
<i>Acinetobacter</i> sp. CD044	3,93	c
Fosfato diamónico	3,933	c
<i>Acinetobacter</i> sp. CD044 + Roca fosfórica	3,90	c

X = 4.256

$$ALS(T)_{0,05} = 0,515$$

V. DISCUSIÓN

5.1 Bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar aisladas en raíces y suelo rizosférico de *Zea mays* “maíz” en distrito de Reque, Lambayeque, 2010

Las muestras de raíces y suelo rizosférico de plantas de maíz resultaron adecuadas para el aislamiento de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar, debido a que en estas zonas proliferan los microorganismos y alcanzan un mayor número y diversidad porque encuentran el suministro de fuentes carbonadas para su metabolismo (Reyes, 1991; Jiménez *et al.*, 2001), habiéndose determinado en investigaciones previas que la población microbiana disminuye entre 10 a 100 veces al alejarse pocos milímetros de la superficie radical (Patkowska, 2002; Reyes, 2003). Entre las bacterias solubilizadoras predominaron las Gram positivas frente a las Gram negativas. A diferencia, Useche *et al.* (2004) y Carreño (2009) determinaron una predominancia de Gram negativas utilizando

fosfato dicálcico que presenta una solubilidad de 80 %; en contraste con la roca fosfórica que tiene una solubilidad de 25 % (Alegre & Chumbinume, 1991).

Las bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar se aislaron en agar SRSM con roca fosfórica de Bayóvar y se reconocieron por el viraje del indicador púrpura de bromocresol hacia el amarillo que indica la presencia de ácidos orgánicos producidos por estas bacterias (Jiménez, 2007; Mantilla, 2007; Espín, 2008); sin embargo, no se observaron los típicos halos de solubilización de fósforo. Similares resultados se observaron en bacterias aisladas de afloramientos de roca fosfórica (Reyes, 1999), y en *Azotobacter* spp. aisladas de raíces y suelo rizosférico de hortalizas (Escobar & Horna, 2011). Al respecto, Quitral (2006) manifestó que las técnicas de ecipitado son útiles para aislar microorganismos solubilizadores; sensibilidad limitada porque las tasas de difusión de los ácidos orgánicos y de crecimiento de la colonia afectan el tamaño del halo, así como la solubilidad de la fuente de fósforo que en la presente investigación fue roca fosfórica y que es tres veces menos soluble que el fosfato dicálcico utilizado normalmente en el medio SRSM (Aparicio & Arias, 2010).

En los caldos SRSM cultivados con 71,43 % de las bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar, se observó incremento en la concentración de fósforo con respecto al caldo SRSM no inoculado a partir de las 24 horas de incubación; explicado mayormente por el mecanismo de solubilización de fosfatos minerales a través de la secreción de ácidos orgánicos producidos por los microorganismos (Carreño, 2009). En el 28,57 % de los caldos SRSM no se cuantificó el fósforo soluble, posiblemente porque el método colorimétrico de molibdato utilizado en el presente trabajo no presenta sensibilidad para concentraciones mínimas de fósforo.

Según las variaciones de la concentración de fósforo soluble en los caldos cultivados con las nueve bacterias seleccionadas se observaron

dos comportamientos. Un primer grupo de bacterias que incrementó la concentración de fósforo soluble en forma sostenida y un segundo grupo donde el fósforo soluble disminuyó después de alcanzar un valor máximo. La producción de acidez estable por un mayor tiempo garantiza una mayor concentración de fósforo soluble. Esta característica fisiológica es importante porque el fosfato liberado a la solución del suelo es susceptible de ser fijado, razón por la que es necesario mantener activos los mecanismos solubilizadores en forma permanente para que el nutriente pueda ser absorbido por las plantas (Carreño, 2009).

En los caldos cultivados con las bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar se observó disminución del pH hasta 4,2; coincidiendo con Whitelaw (2000), quien determinó que en medios líquidos, los cambios de pH se relacionan con la solubilización de fósforo, demostrándose que en su mayoría la disminución del pH es el mecanismo de solubilización de fosfato predominante. Una alta solubilización de fósforo está asociada a un bajo pH en el medio de cultivo y viceversa; sin embargo, Carreño (2009) determinó que no siempre la concentración máxima de fósforo soluble está relacionada con la disminución del pH, porque existen otros mecanismos involucrados en la solubilización de los compuestos de fósforo y que incluyen la excreción de protones acompañado de la asimilación del ión amonio (Ilhmer, 1995) o la formación de quelatos por los ácidos orgánicos, liberándose el fósforo de las fuentes no disponibles (Barrera, 2002).

Los ácidos orgánicos originan una acidificación de la célula microbiana y su microambiente, liberando el fósforo del mineral (Rodríguez & Fraga, 1999). Algunos autores consideran que el ácido más frecuente observado entre los microorganismos solubilizadores de fósforo es el glucónico, además de los ácidos glicólico y cetoglucónico (Useche *et al.*, 2004; Díaz *et al.*, 2008); sin embargo, el análisis cromatográfico de gases del sobrenadante de cultivos de bacterias solubilizadoras de fósforo demostró la presencia de once ácidos orgánicos volátiles y no volátiles entre los que se identificaron los ácidos

láctico, succínico, isovalérico, isobutírico, acético, cítrico y oxálico (Vásquez *et al.*, 2000; Gonzales, 2004). Está demostrado que los ácidos orgánicos producidos por los microorganismos disminuyen el pH del medio o bien forman quelatos y en uno o ambos casos se produce la solubilización de los fosfatos (Cárdenas, 2006).

Como solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar fueron identificados *Enterobacter* sp., *Micrococcus* sp., y *Acinetobacter* sp.; coincidiendo con Cantera *et al.* (2008) quienes identificaron *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Erwinia*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* y *Azotobacter* como solubilizadoras de roca fosfórica, en Colombia.

Las bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar *in vitro* seleccionadas son consideradas con potencial para ser utilizadas como biofertilizantes solubilizadores de fósforo en cultivos vegetales; sin embargo, aún deben realizarse ensayos de efectividad sobre el desarrollo y rendimiento vegetal en invernadero y campo, cuyos resultados positivos demuestren el beneficio de su aplicación (Carreño, 2009; Escobar & Horna, 2011).

5.2 Efecto de la inoculación en la rizósfera de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar sobre el desarrollo vegetativo de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad marginal 28-T mejorado, en condiciones de invernadero

Las bacterias nativas más eficientes en la solubilización de roca fosfórica de Bayóvar *in vitro* (*Enterobacter* sp. CD052, *Micrococcus* sp. PM114 y *Acinetobacter* spp. PM099 y CD044), inoculadas en la rizósfera, influenciaron positivamente en el desarrollo vegetativo de maíz amarillo duro variedad marginal 28-T. Coincidiendo con los resultados, diversas investigaciones han demostrado que los microorganismos solubilizadores a través de diversos mecanismos liberan

el fósforo insoluble originado formas químicas solubles que son absorbidas rápidamente por las plantas, incrementando el desarrollo vegetativo y rendimiento de los cultivos, por lo que son consideradas promotoras del crecimiento de las plantas, “PGPRs” (Vásquez *et al.*, 2000; Díaz *et al.*, 2001; Cordero *et al.*, 2008; Santillana, 2006; Carrillo *et al.*, 2000).

El fósforo es un elemento esencial para las plantas. Como factor de crecimiento, estimula la germinación de semillas y brotación de las yemas, favoreciendo la actividad en los ápices y el crecimiento de las raíces; como factor de precocidad, activa el desarrollo inicial y tiende a acortar el ciclo vegetativo, favoreciendo la maduración. En términos generales, puede decirse que es un elemento regulador del crecimiento vegetativo y, por tanto, un factor de calidad. Favorece precisamente los periodos de vegetación que son críticos para el rendimiento del cultivo: fecundación, maduración y movimiento de las reservas (Urbano, 2001).

En la eficiencia de solubilización de roca fosfórica *in vitro*, *Enterobacter* sp. CD052 alcanzó un valor máximo de 49,21%; observándose también una producción de acidez mayor a todas las cepas, la cual se incrementó desde las 24 a las 120 horas. Aunque es poco probable que los ácidos orgánicos producidos en la rizósfera permanezcan intactos, lo suficiente como para afectar la mayor concentración de fósforo liberado desde el suelo, es posible que la reducción de pH en la rizósfera y la complejación de cationes permitan una efectiva solubilización de la roca fosfórica de Bayóvar en el microambiente, resultando en el incremento de la absorción de este elemento por las raíces (Ferraris & Couretot, 2004).

Las plantas de maíz inoculadas con las bacterias nativas solubilizadoras más roca fosfórica de Bayóvar alcanzaron un mayor desarrollo en el volumen y peso radicular, lo que a su vez permitió una mejora en la absorción de nutrientes por unidad de superficie radicular. El incremento de raíces unido al cambio en el balance hormonal interno de la planta con aumento en la producción de auxinas y

disminución de etileno permite una coloración verde más intensa y sobre todo un mayor desarrollo en la parte aérea (Jacobson *et al.*, 1994).

La inoculación de las bacterias nativas en consorcio superó en efectividad a los testigos químicos y permitió alcanzar un mayor peso radicular frente al de las plantas inoculadas con cada bacteria independientemente, coincidiendo con Escobar y Horna (2011) quienes observaron que la inoculación de *Azotobacter* spp. nativas en consorcio permitió alcanzar mayores valores en volumen y biomasa radicular así como en altura y biomasa total y de la parte aérea; que no fueron estadísticamente diferentes de las obtenidos con los tratamientos químicos.

La mayor efectividad del consorcio es explicada por las interacciones como protocooperación y simbiosis que existen en los microorganismos y que pueden ser beneficiosas al mejorar el desarrollo y crecimiento o permitir la supervivencia (Coyne, 2000). Por esta razón, diversos microorganismos como las bacterias lácticas generalmente se utilizan en mezcla de cepas de una misma especie o de géneros diferentes. De esta manera, durante la maduración del queso Cheddar, el cultivo mixto de *Lactobacillus acidophilus* y de *Propionibacterium* en glucosa permite a cada una de las bacterias desarrollarse más rápidamente. El lactato producido por la bacteria homoláctica no se acumula y es utilizado por la bacteria propiónica la cual a su vez genera acetato y dióxido de carbono, que activan al lactobacilo (Leveau & Bouix, 2000). Asimismo, la protocooperación de cepas de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* para la elaboración del yogurt es el ejemplo más conocido y probablemente la asociación más estable donde el lactobacilo suministra los aminoácidos y péptidos que los estreptococos necesitan y a su vez estos producen ácido fórmico que estimula el desarrollo de las bacterias lácticas (Heller, 2008; García *et al.*, 2009).

El efecto benéfico de las bacterias nativas es independiente de su capacidad para solubilizar roca fosfórica por cuanto su inoculación en forma aislada o en consorcio sin este fertilizante incrementó las características vegetativas del maíz en invernadero; coincidiendo con Arias y Aparicio (2009) quienes observaron que

un aislamiento de *Aspergillus niger* no solubilizó roca fosfórica de Bayóvar; no obstante, las características de las plantas de tomate donde fue inoculado fueron superiores a las del testigo absoluto. El resultado puede ser explicado por la síntesis de sustancias estimuladoras del crecimiento por las bacterias nativas. Según Bashan & Levanony (1990) el efecto de los microorganismos promotores del crecimiento de las plantas como los solubilizadores de roca fosfórica de Bayóvar es atribuido, según la denominada “hipótesis aditiva”, a que participa más de un mecanismo en la asociación planta-microorganismo, los mismos que operan simultáneamente o en asociación. La suma de sus actividades en una condición ambiental específica resulta en los cambios observados en el desarrollo y rendimiento de las plantas.

VI. CONCLUSIONES

- ✓ El 67,5 % (54) de las muestras raíces y suelo rizosférico de maíz resultó positivo para el aislamiento de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar.
- ✓ Las bacterias nativas *Enterobacter* sp. CD052, *Micrococcus* sp. PM114 y *Acinetobacter* spp. PM099 y CD044 alcanzaron valores de 49,21; 45,09; 44,27 y 38,50 %, respectivamente de eficiencia de solubilización de roca fosfórica de Bayóvar *in vitro*.
- ✓ En condiciones de invernadero *Enterobacter* sp. CD052, *Micrococcus* sp. PM114 y *Acinetobacter* spp. PM099 y CD044 incrementaron el desarrollo del maíz amarillo duro variedad marginal 28-T mejorado, alcanzando valores de 215,27 cm en altura, 4,97 cm en diámetro del tallo, 65,33 cm³ en volumen radicular así como, 56,67 y 9,83 g en el peso de materia seca de la parte aérea y radicular, respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

- ✓ Identificar mediante pruebas moleculares las bacterias nativas *Enterobacter* sp. CD052, *Micrococcus* sp. PM114 y *Acinetobacter* spp. PM099 y CD044.
- ✓ Determinar el efecto de *Enterobacter* sp. CD052, *Micrococcus* sp. PM114 y *Acinetobacter* spp. PM099 y CD044 independientemente y en consorcio en el desarrollo vegetativo y rendimiento de maíz amarillo duro var. Marginal 208-T mejorado y otras gramíneas en condiciones de campo.
- ✓ Determinar las dosis y momentos de aplicación de *Enterobacter* sp. CD052, *Micrococcus* sp. PM114 y *Acinetobacter* spp. PM099 y CD044 en gramíneas bajo condiciones de campo.

VIII. RESUMEN

La presente investigación se desarrolló con el objetivo de determinar el efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar sobre el desarrollo vegetativo de *Zea mays* L. “maíz”, como una alternativa al problema de la limitada disponibilidad de fósforo y al uso indiscriminado de fertilizantes químicos fosforados. Las bacterias fueron aisladas de suelo rizosférico de maíz procedentes de la región Lambayeque. Se realizaron diluciones hasta 10^{-2} en solución salina estéril (0,89 %, p/v) y se sembraron en agar SRSM (Sundara Rao Sinha Medium) con $16,67 \text{ g L}^{-1}$ roca fosfórica de Bayóvar (30 % P_2O_5) donde se

seleccionaron las colonias que presentaron un viraje del indicador al amarillo, obteniéndose 126 cultivos puros. La eficiencia de solubilización *in vitro* se determinó en frascos con 225 mL de caldo SRSM-Roca fosfórica de Bayóvar inoculados con 25 mL de suspensiones celulares (3×10^8 células mL⁻¹) a 28 °C por 5 días, donde se cuantificó el fósforo soluble mediante el método colorimétrico del molibdato. Se seleccionaron *Enterobacter* sp. CD052, *Micrococcus* sp. PM114 y *Acinetobacter* spp. CD044 porque alcanzaron los mayores valores de solubilización (49,21; 45,09 y 44,27 %) y *Acinetobacter* spp. CD099 que alcanzó el mayor incremento de fósforo soluble en el menor tiempo. Estas bacterias fueron inoculadas en la rizósfera de maíz amarillo duro var. Marginal 28-T mejorado, incluyendo dos testigos químicos (fosfato diamónico y roca fosfórica de Bayóvar) y un testigo absoluto, utilizando un diseño completamente aleatorio (DCA). En invernadero las bacterias nativas incrementaron el desarrollo, alcanzando valores de 215,27 cm en altura; 4,97 cm en diámetro del tallo; 65,33 cm³ en volumen radicular; 56,67 y 9,83 g en peso de materia seca de parte aérea y raíces respectivamente. Se demostró el efecto benéfico de la aplicación de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en maíz.

IX. REFERENCIAS

- Alegre, J. & Chumbinume, R. (1991). *Investigaciones y usos de la roca fosfórica en el Perú*. Fac. Agron., (17), 217-237.
- Alvitres, V. (2000). *Método científico. Planificación de la investigación*. 2^{da} edición. Perú: Editorial Ciencia.

- Aparicio, J. & Arias, L. (2010). *Efecto de hongos solubilizadores de roca fosfórica de Bayóvar en el desarrollo de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) en invernadero*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Bandy, D. & León L. (1983). *Rock phosphate utilization. Agronomic Economic Research on Soil of the Tropics*. Technical Report. Soil Science Department North Carolina State University.
- Barceló, J., Sabater, B., Nicolás, G. & Sanchez, R. (2003). *Fisiología Vegetal*. España: Editorial Piramide.
- Barrera, S. (2002). *Solubilización de Roca Fosfórica Carolina del norte por hongos nativos aislados de un suelo trumao de la X Región*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Bashan, Y. & Levanony, H. (1990). *Current status of Azospirillum as a challenge for agriculture*. Can Journal Microbiol, (36), 591-608.
- Becerra, M & Gil, L (2009). *Efecto de Pseudomonas spp. solubilizadoras de fósforo en el desarrollo vegetativo del "maíz"(Zea mays L.) en Ferreñafe, Lambayeque*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Blanco, H. (2007). *Comparativo de rendimiento de 8 híbridos de maíz amarillo duro (Zea mays L.) bajo condiciones agroclimáticas de la parte media del valle Chancay Lambayeque*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Bolan, N., Mahirmairaja, S. & Baskaran, S. (1994). *Influence of low molecular weight organic acids on the solubilization of phosphates*. Biol. Fertil. Soils, (18) 311-319.
- Campillo, R. (1990). *Roca Fosfórica nativa para la fertilización de praderas*. Investigación y prog Carillanca, Chile, 9(3) 31-34.
- Cárdenas, C. (2006). *Evaluación de la roca fosfórica Carolina del Norte inoculada con cepas fúngicas como fertilizantes para la producción de plántulas de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) en invernadero*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

- Carreño, C. (2009). *Efecto de la Inoculación de bacterias nativas solubilizadoras de fósforo en el desarrollo y rendimiento de tres cultivos agrícolas en Mochumi - Lambayeque, Perú*. (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.
- Carrillo, G., Juárez, J. & Ruíz, D. (2000). *Aumento del rendimiento de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cuando la raíz se desarrolla colonizada por microorganismos*. *Biología Aplicada*, (17), 171-176.
- Celis, L. & Gallardo, I. (2008). *Estandarización de métodos de detección para promotores de crecimiento vegetal (ácido indolacético y giberelinas) en cultivos microbianos*. (Tesis de Licenciatura). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Cheney, T., McClellan, G. & Montgomery, E. (1979). *Sechura Phosphate, Their Stratigraphy, Origin, and Composition*. *Economic Geology*, (24), 232-259.
- Collavino, M. & Aguilar, O. (2005). *Aislamiento de bacterias solubilizadoras de fósforo en la rizósfera de Yerba mate (*Ilex paraguarensis*)*. (Tesis doctoral). Disponible en la base de datos de la XXVIII Reunión de Comunicaciones Científicas técnicas. Argentina.
- Cordero, J., Ortega, P. & Ortega, E. (2008). *La inoculación de plantas con *Pantoea* sp., bacteria solubilizadora de fosfatos incrementa la concentración de fósforo en los tejidos foliares*. *Revista Colomb Biotecnol*, 10 (1), 111-121.
- Coyne, M. (2000). *Microbiología del Suelo. Un Enfoque Exploratorio*. España: Editorial Paraninfo.
- Dávila, A. & Lloclla, H. (2004). *Consortios microbianos solubilizadores de fósforo aislados de suelos agrícolas*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Díaz, P., Ferrera, R., Almaraz, J. & Alcantar, G. (2001). *Inoculación de bacterias promotoras del crecimiento en lechuga*. Terra, Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgraduados. Recuperado de <http://www.chapingo.mx/terra/contenido/19/4/tc.html>

- Díaz, M. & Bach, T. (2008). *Estudios de las características de promoción del desarrollo vegetal de Pseudomonas fluorescens 1008 en el Biofertilizante Rizosos liq Trigo*. Departamento de Desarrollo Rizobacter Argentina S.A. Recuperado de http://www.actaf.co.cu/revistas/revista_ao_95-2010/Rev%202008-3/21-Rizobacterias.pdf
- Doebley, J. & Stec, A. (1993). Inheritance of morphological differences between maize and teocintle: comparison of results of two F2 populations. *Genetics*, (134),559-570.
- Escobar, C. & Horna, Y. (2011). *Caracterización de cepas nativas de Azotobacter spp. y su potencial como promotoras del desarrollo vegetativo de "tomate" (Lycopersicon esculentum Mill.)*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Espín, G. (2008). *Biología de Azotobacter vinelandii*. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_09/Capitulo09.pdf
- Espinoza, J. (1998). *Fijación del fósforo en suelos derivados de ceniza volcánica y fertilización fosfórica del cultivo de la papa*. España: Editorial Paraninfo.
- Fernández, L., Zalba, P., Gómez, M. & Sagardoy, M. (2005). *Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aisladas de suelos de la región sojera*. Revista Ciencia del Suelo. Recuperado de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S185020672005000100004&lng=pt&nrm=iso&tlng=es
- Ferraris, G. & Couretot, T. (2004). *Evaluación de la inoculación de Pseudomonas en maíz bajo diferentes ambientes de fertilidad. Proyecto regional agrícola de Argentina*. Argentina. Recuperado de http://www.engormix.com/evaluacion_inoculacion_con_pseudomonas_s_articulos_1214_AGR.htm.
- Ferrera, R., Cerrato, R. & Pérez, M. (Eds). (1995). *Efecto de la rizósfera*. Agromicrobiología. Elemento útil en la agricultura. Montecillo, México: Colegio de Postgraduados.
- García, I., Medina, M. & Espinosa, J. (2009). Desarrollo de un yogurt con cualidades prebióticas. *Revista Chilena de Nutrición*, 36 (01), 308.
- González, J. (2001). *Efectos de la fertilización N-P-K en el rendimiento y calidad de*

choclo en la parte baja del valle Chancay. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.

González, G. (2004). *Inoculante bacteriano para el cultivo de maíz*. Departamento de Desarrollo Rizobacter Argentina S.A. Argentina.

Gutiérrez, S. (1995). *Estudio técnico alternativo para el incremento de la producción de 400,000 T.M.A de concentrado de fosfato en el area I de Bayóvar-Sechura*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú.

Heller, K. (2008). *Bacterias prebióticas en alimentos fermentados. Características de los productos y microorganismos iniciadores*. Mundo Lácteo y Cárnico. Recuperado de <http://www.mundolacteoycarnico.com>

Hernández, M. & Chailloux, M. (2001). *La nutrición mineral y la biofertilización*. Temas de Ciencia y Tecnología, 5 (13), 11 – 27.

Hernández, R., Fernández, C. & Baptista, P. (2003). *Metodología de la investigación*. México: Editorial Mc Graw. Hill Interamericana Editores S.A.

Holt, J., Krieg, N., Sneath, P., Staley, J. & William, S. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9^{na} edición, Baltimore.

Ilhmer, P. (1995). *Solubilization of hardly soluble $AlPO_4$ with P-solubilizing microorganism* Soil Biol Biochem, 265-270.

Jacobson, C., Pastemack, J. & Glick, R. (1994). *Partial purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from the plant growth promoting rhizobacterium Pseudomonas putida GR 12-2*. Can J Microbiol, (40), 1019-1025.

Jiménez, R., Virgen, G., Franco, R. & Olalde, V. (2001). Bacterias promotoras del crecimiento de plantas: agro-biotecnología. Avance y Perspectiva, (20), 395-400.

Jiménez, D. (2007). *Caracterización molecular de cepas nativas colombianas de Azotobacter spp. mediante el Análisis de Restricción del DNA Ribosomal 16S*. (Tesis de Licenciatura). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Khasawneh, F. & Doll, E. (1978). *The use of Phosphate rock for direct application to*

soils. *Advances in Agronomy*, (30), 159-206.

Leveau, J. & Bouix, M. (2000). *Microbiología industrial. Los microorganismos de interés industrial*. España: Editorial Acribia S.A.

López, R. (1986). *Investigación Agrícola sobre Roca Fosfórica en el Perú*. MNCSU-INIPA, Lima.

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 de Licenciatura). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Ministerio de Agricultura MINAG (2009). *Síntesis económica de Lambayeque*. Lima. Perú. Recuperado de <http://www.bcrp.gob.pe/docs/sucursales/piura/2010/sintesis-lambayeque-11-2010.pdt>.

Ministerio de Agricultura (2010). *Siembras de los principales cultivos (por Departamento), en hectáreas*. Boletín CAD ciudadanos al día, N° 102, Mayo 2010, Recuperado de <http://www.consultas@ciudadanosaldia.org/boletinCAD/102/produccionagropecuaria/pdf>

Ministerio de Agricultura OEEE (2010). *Intenciones de siembra campaña agrícola Agosto 2010- Julio 2011*. Lima. Perú. Recuperado de <http://frenteweb.minag.gob.pe/sisris/pdf/CapituloIII.pdf>

Moratto, C., Martínez, L., Valencia, H. & Sánchez, J. (2005). *Efecto del uso del suelo sobre hongos solubilizadores de fosfato y bacterias diazotróficas en el páramo de Guerrero (Cundinamarca)*. *Agronomía Colombiana*, 23 (2).

Municipalidad de Reque (2008). *Plan de desarrollo concertado local de Reque, Lambayeque, Perú*. Recuperado de <http://www.munireque.gob.pe/>

Nahas, E. (1996). *Factors determinig rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil*". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Recuperado de <http://www.springerlink.com/content/v101u50347rv5415/>

Noel, G. (1976). *Evaluación de fosfatos naturales a diferentes niveles de P_2O_5 y tamaño de partículas en un cultivo de sorgo (*Sorghum vulgare* L.) bajo*

condiciones de invernadero. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

Núñez, Q. (2003). *Evaluación de la rentabilidad económica del cultivo de maíz amarillo duro financiado en el departamento de Lambayeque 1995-2000*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.

Patkowska, E. (2002). *The role of rhizosphere antagonistic microorganisms in limiting the infection of underground parts of the spring wheat*. Journal of Polish, 5(2). Recuperado de <http://www.ejpau.media.pl/series/volume5/issue2/horticulture/art04.html>

Pinilla, H. (1994). *Uso de roca fosfórica parcialmente acidulada en suelos de la zona sur*. Frontera Agrícola Chilena, 2 (1), 51-60.

Quitral, A. (2006). *Solubilización de roca fosfórica por hongos rizosféricos aislados de especies forrajeras de importancia en la X Región de Chile*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Reyes, I. (1991). *Cuantificación de microorganismos solubilizadores de fosfatos en suelos del yacimiento de roca fosfórica de Monte Fresco*. Facultad de Agronomía Maracay, Número 17, marzo 2004. Recuperado de http://www.redpavfpolar.info.ve/fagro/v17_14/v171a280.html

Reyes, I. (1999). *Cuantificación de microorganismos solubilizadores de fosfatos de suelos de roca fosfórica de Monte Fresco*. Universidad Nacional Experimental del Táchira, Venezuela.

Reyes, I. (2003). *Biodiversidad de la disolución microbiana de los fosfatos minerales*. Venezuela, 1(11), 46-54.

Rodier, J. & Rodi, L. (1981). *Análisis de Aguas*. España: Ediciones Omega.

Rodríguez, H. & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotech, (17), 319-339.

Rodríguez, C. (2002). *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization en Agriculture*. Sevilla, Recuperado de <http://www.springer.com/life+sci/agriculture/book/978-1-4020-4019-1>

- Rojas, S. (1975). *Evaluación biológica de la roca bruta de Bayóvar con y sin super fosfato simple y la materia orgánica*. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Rojas, C., Campillo, R. & Besoain, E. (1993). *Uso de rocas fosfóricas en agricultura*. Investigación y progreso agropecuario La Platina (Chile), (79), 30 – 33.
- Santillana, N. (2006). *Producción de Biofertilizantes utilizando Pseudomonas spp*. Ecología Aplicada, 4(1y2), 47-51.
- Sepúlveda, G., Besoain, E. & Molina, R. (1997). *Rocas fosfóricas chilenas. Eficiencia agronómica y su uso como fertilizantes fosfatados en suelos volcánicos*. Agric.Téc., (57), 225-241.
- Serquén, J. (2004). *Efecto de la densidad de siembra y dosis de fertilización balanceada en el rendimiento de maíz amarillo duro en dos localidades del valle Chancay Lambayeque.2003*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Sierra, C. (1990). *Rocas Fosfóricas: Nueva fuente de fósforo para praderas y cultivos*. Boletín Técnico INIA Remehue, Chile, (159), 9.
- Tiessen, H., Chacon, P. & Cuevas, E. (1994). *Phosporus and nitrogeno status in soils and vegetation along a toposequence of dystrophic rainforest of the upper Rio Negro*. Oecología, (99), 145-150.
- Tisdale, S., Nelson, W., Beaton, J. & Havlin, J. (1993). *Soil fertility and fertilizers* (pp. 634). 5^{ta} edición. United States: Editorial Macmillan.
- Tomasini, L. (1983). *Evaluación de la disponibilidad del fósforo del suelo y de dos fuentes de fertilizantes fosfatados, usando el isótopo radiactivo P 32 en 18 suelos de la zona central del Perú*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Treto, E., García, M., Martínez, R. & Febles, J. (2005). *Avances en el manejo de los suelos y la nutrición orgánica*. Universidad Agraria de La Habana. Cuba.
- Urbano, P. (2001). *Tratado de Fitotecnia General*. 2da edición. España: Editorial Mundi-Prensa, 530.

- Useche, Y., Valencia, H., & Pérez, H. (2004). *Caracterización de bacterias y hongos solubilizadores de fosfatos bajo tres usos de suelo en el sur del trapezoido amazónico*. Acta Biológica Colombiana, 2(9).
- Vásquez, P., Holguin, G., Puente, M., Lopez, A. & Bashan, Y. (2000). *Phosphate solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon*. Biol Fertl Soils, (30), 400-408.
- Vivanco, A. Eche, I. Sanchez, J. Saravia, J. (1998). *Comportamiento de la roca fosfórica Bayóvar en la secuencia maíz-frijol en suelos ácidos de la selva*. Disponible en la base de datos del VI congreso nacional de la ciencia del suelo del 21-25 Setiembre. Tingo María, Perú.
- Whitelaw, M. (2000). *Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi*. Advances in Agronomy, (69), 99-152.

X. ANEXOS

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Cálculo del número de muestras de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar	86
Anexo 2. Medios de Cultivo	87
a) Medio Sundara Rao Sinha (SRSM)	87
b) Medio Tripticasa Soya	88
c) Caldo Sundara Rao Sinha (SRSM) con 100 mgL^{-1} de fósforo ---	88
Anexo 3. Método colorimétrico del Molibdato para cuantificar fósforo soluble	89
Anexo 4. Curva de calibración y ecuación lineal para determinar la concentración de fósforo solubilizado por las cepas nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóva	92
Anexo 5. Diluciones para determinar la curva de calibración para cuantificar fósforo soluble	93
Anexo 6. Identificación de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar	94
Anexo 7. Calculo de roca fosfórica de Bayóvar para la fertilización química en el cultivo de <i>Zea mays</i> “maíz” en invernadero	96
Anexo 8. Valores promedios de la concentración de fósforo soluble (mg L^{-1}) en caldo SRSM cultivado con 126 bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en diferentes tiempos de incubación	97
Anexo 9. Valores promedio de pH en caldo SRSM cultivado con ciento veintiséis cepas nativas de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en diferentes tiempos de incubación 101	101
Anexo 10. Eficiencia (%) de solubilización de fósforo <i>in vitro</i> de 126 bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar cultivados en caldo SRSM a 28°C ($P_i = 100 \text{ mg L}^{-1}$)	105

Anexo 11. Análisis de varianza de valores promedios de altura al inicio de la floración (cm) de <i>Zea mays L.</i> maíz amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero	109
Anexo 12. Análisis de varianza de valores promedios de Peso aéreo (g) de <i>Zea mays L.</i> maíz amarillo duro variedad marginal 28 T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero	109
Anexo 13. Análisis de varianza de valores promedios de Volumen radicular (cm ³) de <i>Zea mays L.</i> maíz amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero	110
Anexo 14. Análisis de varianza de valores promedios de Peso radicular(g) de <i>Zea mays L.</i> maíz amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero	110
Anexo 15. Análisis de varianza de valores promedios de Diámetro del tallo (cm) de <i>Zea mays L.</i> maíz amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero	111

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ubicación de la zona de muestreo correspondiente al distrito de Reque, provincia Chiclayo, Región Lambayeque. Noviembre, 2010
16
- Figura 2.** Extracción de raíces y suelo rizosférico a una profundidad de 20 a 25 cm.
18
- Figura 3.** Muestra de raíces y suelo rizosférico de *Zea mays* L. “maíz” para el aislamiento de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar
8
- Figura 4.** Muestras de raíces y suelo rizosférico (10 g) en 90 mL de solución salina (NaCl 0,89 %, p/v) estéril (dilución 10^{-1}) y dilución 10^{-2}
19
- Figura 5.** Siembra en agar SRSM con roca fosfórica de Bayóvar como fuente de fósforo
20
- Figura 6.** Colonias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar, aisladas en agar SRSM a 28 °C durante 24 horas
20
- Figura 7.** Observación microscópica de bacilos Gram negativos y cocos Gram positivos (100X)
1

21

Figura 8. Bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar cultivadas en agar tripticasa soya -----

21

Figura 9. Suspensión acuosa de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar estandarizada con la concentración del tubo 01 del nefelómetro de Mc Farland-----

23

Figura 10. Frascos con 225 mL de caldo SRSM – roca fosfórica de Bayóvar -----

23

Figura 11. Caldo SRSM cultivado con bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar -----

24

Figura 12. Determinación de pH y cuantificación el fósforo soluble

24

Figura 13. Modelo de diseño experimental completamente aleatorio (DCA) para determinar el efecto de cuatro bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en el desarrollo vegetativo de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado en invernadero

29

Figura 14. Semillas de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado -----

30

Figura 15. Siembra de cuatro semillas de maíz a una profundidad de 3 cm del suelo con un distanciamiento de 5 cm -----

32

Figura 16. Bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar cultivadas en 100 mL de caldo nutritivo, a 28 °C, en agitación constante (150 rpm) durante 24 horas -----

32

Figura 17. Eliminación de las plantas de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado menos vigorosas -----

33

Figura 18. Inoculación de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en la rizósfera de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado-----

33

Figura 19. Aplicación de roca fosfórica de Bayóvar y fosfato diamónico. -----

34

Figura 20. Medición de la altura máxima (cm) de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado -----

36

Figura 21. Medición del volumen radicular (cm³) de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T mejorado -----

36

Figura 22. Peso (g) de la biomasa seca de la parte aérea y de la parte radicular.

37

Figura 23. Porcentaje de bacterias Gram positivas y Gram negativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar aisladas de raíces y suelo rizosférico de *Zea mays* L. “maíz” en el distrito de Reque, Lambayeque, 2010

41

Figura 24. Bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en agar SRSM con roca fosfórica después de 24 horas de incubación

41

Figura 25. Variaciones de la concentración de fósforo soluble y pH en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG CD052.....

45

Figura 26. Variaciones de la concentración de fósforo soluble y pH en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG PM114

45

Figura 27. Variaciones de la concentración de fósforo soluble y pH en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG PM099.....

46

Figura 28. Variaciones de la concentración de fósforo soluble y pH en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG PM070.....

46

Figura 29. Variaciones de la concentración de fósforo soluble y pH en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG PM067-----

47

Figura 30. Variaciones de la concentración de fósforo soluble y pH en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG CD042-----

48

Figura 31. Variaciones de la concentración de fósforo soluble y pH en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG CD038-----

48

Figura 32. Variaciones de la concentración de fósforo soluble y pH en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG CD057 -----

49

Figura 33. Variaciones de la concentración de fósforo soluble y pH en caldo SRSM cultivado con la bacteria nativa UNPRG CD044-----

49

Figura 34. Parte aérea de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro var. Marginal 28-T mejorado después de la aplicación conjunta de bacterias y roca fosfórica de *Acinetobacter* sp. CD044, *Enterobacter* sp. CD052, *Acinetobacter* sp. PM099, *Micrococcus* sp. PM114 y testigo roca fosfórica -----

52

Figura 35. Raíces de *Zea mays* L. “maíz” amarillo duro var. Marginal 28-T mejorado después de la aplicación conjunta de bacterias y roca fosfórica de *Acinetobacter* sp. CD044, *Enterobacter* sp. CD052, *Acinetobacter* sp. PM099, *Micrococcus* sp. PM114, testigo roca fosfórica -----

52

Figura 36. Valores promedios de altura (cm) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de la aplicación de bacterias solubilizadoras y roca fosfórica de Bayóvar frente a sus testigos quimicos -----

53

Figura 37. Valores promedios de peso aereo (g) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de la aplicación de bacterias solubilizadoras y roca fosfórica de Bayóvar frente a sus testigos quimicos -----

54

Figura 38. Valores promedios del volumen radicular (cm³) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de la aplicación de bacterias solubilizadoras y roca fosfórica de Bayóvar frente a sus testigos quimicos -----

55

Figura 39. Valores promedios del peso radicular (g) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de la aplicación de bacterias solubilizadoras y roca fosfórica de Bayóvar frente a sus testigos -----

quimicos

56

Figura 40. Valores promedios de diametro del tallo (cm) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de la aplicación de bacterias solubilizadoras y roca fosfórica de Bayóvar frente a sus testigos quimicos -----

57

Figura 41. Valores promedios de altura (cm) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de cuatro cepas nativas de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en forma individual, consorcio y tres testigos en invernadero -----

58

Figura 42. Valores promedios del peso aereo (g) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de cuatro cepas nativas de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en forma individual, consorcio y tres testigos en invernadero -----

59

Figura 43. Valores promedios del volumen radicular (cm³) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de cuatro cepas nativas de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en forma individual, consorcio y tres testigos en invernadero -----

60

Figura 44. Valores promedios del peso radicular (g) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de cuatro cepas nativas de -----

bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en forma individual, consorcio y tres testigos en invernadero

61

Figura 45. Valores promedios de diametro del tallo (g) al inicio de la floración de *Zea mays* L. “maíz” por efecto de cuatro cepas nativas de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en forma individual, consorcio y tres testigos en invernadero

62

Figura 46. Recta patrón para determinar la concentración de fósforo solubilizado

92

Figura 47. Diluciones sucesivas de una solución madre de fosfato monopotásico ($0,2 \text{ gL}^{-1}$) más reactivo indicador para obtener la curva de calibración

9

3

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Análisis físico - químico del suelo experimental de Reque. Lambayeque, Enero 2011 -----	27
Tabla 2.	Presencia (%) de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en muestras de raíces y suelo rizosférico de <i>Zea mays</i> L. “maíz” en el distrito de Reque, Lambayeque, 2010 -----	40
Tabla 3.	Frecuencia (%) de bacterias solubilizadoras de roca Fosfórica de Bayóvar según morfología y reacción tintorial, aisladas de raíces y suelo rizosférico de <i>Zea mays</i> L. “maíz” en el distrito de Reque, Lambayeque, 2010 -----	42
Tabla 4.	Valores promedios de la concentración de fosforo soluble (mgL-1) en caldo SRSM cultivado con nueve aislamientos de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar -----	44
Tabla 5.	Valores promedios del pH en caldo SRSM cultivado con nueve aislamientos de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar -----	44
Tabla 6.	Eficiencia (%) de solubilización de roca fosfórica de Bayóvar in vitro de nueve aislamientos de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar (Pi= 100 ppm) -----	50
Tabla 7.	Prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) de la altura (cm) de <i>Zea mays</i> L. “maíz” amarillo duro variedad Marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero -----	64
Tabla 8.	Prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) del peso aéreo (g) de <i>Zea mays</i> L. “maíz” amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar	

	y tres testigos en invernadero	65
Tabla 9.	Prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) del volumen radicular (cm ³) de Zea mays L. "maíz" amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero	66
Tabla 10.	Prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) del peso radicular (g) de Zea mays L. "maíz" amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero	67
Tabla 11.	Prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) del diámetro del tallo (cm) de Zea mays L. "maíz" amarillo duro variedad marginal 28-T por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero	68

Anexo 1

Cálculo del número de muestras de cepas nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar (Alvitres, 2000)

$$n = \frac{Z^2 (p.q)}{T^2}$$

$$T^2$$

$$n = \frac{3,84 (0,70 \times 0,30)}{0,0064}$$

$$0,0064$$

$$n = 126$$

Donde:

n= tamaño de muestra

Z = 1,96 ($\alpha = 0,05$), valor estándar

p = 0,70 presencia de bacterias solubilizadoras de roca fósforica

q = ausencia, $1 - p = 0,30$

T = error permitido: 8 %

Anexo 2

Medios de Cultivo

d) Medio Sundara Rao Sinha (SRSM) (en Vásquez *et al.*, 2000)

COMPOSICIÓN	g/L
Glucosa	10,0
Roca fosfórica	16,67
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5
KCl	0,2
MgSO ₄	0,3
MnSO ₄	0,004
FeSO ₄	0,004
NaCl	0,2
Extracto de levadura	0,5
Purpura de bromocresol	0,1
Agar-Agar	15,0

pH 7,0 (+/- 0,2).

- **Cálculo de roca fosfórica**

5 g L⁻¹ de fósforo: Ca₃ (PO₄)₂

La roca fosfórica tiene 30% de P₂O₅ (fósforo)

1 g de roca fosfórica —→ 0,3 g de fósforo

X —→ 5 g de fósforo

X= 16,67 g de roca fosfórica

e) Medio Trypticasa Soya (en Celis & Gallardo, 2008)

COMPOSICIÓN	g/l
Glucosa	2,5
Peptona de caseína	17,0
Peptona de soya	3,0
NaCl	5,0
K ₂ HPO ₄	2,5
Agar	15,0

pH 7.0 (+/- 0.2).

f) Caldo Sundara Rao Sinha (SRSM) con 100 mgL⁻¹ de fósforo (en Vásquez *et al.*, 2000; modificado por los autores)

COMPOSICIÓN	g/L
Glucosa	10,0
Roca fosfórica	0,834
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5
KCl	0,2
MgSO ₄	0,3
MnSO ₄	0,004
FeSO ₄	0,004
NaCl	0,2
Extracto de levadura	0,5
Purpura de bromocresol	0,1

pH 7.0 (+/- 0.2).

- **Cálculo de roca fosfórica equivalente a 100 mgL⁻¹ de fósforo**

16,67 g de roca fosfórica = 2000 mgL⁻¹ de fósforo

Entonces:

0.834 g de roca fosfórica = 100 mgL⁻¹ de fósforo

Anexo 3

Método colorimétrico del Molibdato para cuantificar fósforo soluble (Rodier & Rodi, 1981)

- Reactivos para cuantificar fósforo soluble

Solución de ácido sulfúrico 5N

- Acido sulfúrico (d= 1,84) 14 mL
- Agua destilada hasta enrase 100 mL

Solución de molibdato amónico 4%

20 mL

Solución de ácido ascórbico

- Acido ascórbico 1,76 g
- Agua destilada hasta enrase 100 mL

Solución de emético

- Tartrato doble de antimonio y potasio 0,0274 g
- Agua destilada hasta enrase 100 mL

Reactivo para la detección de ortofosfatos

- Acido 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 gL⁻¹ de fósforo

- Fosfato monopotásico desecado en estufa a 100 °C 0,887 g
- Agua destilada 1 L

- **Solución hija de 2 mgL⁻¹ de fósforo**

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

- **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.

- **Limpieza de los recipientes de vidrio**

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

- **Preparación de la curva de calibración**

Colocar en una serie de matraces aforados de 25 mL:

Número de matraces	T	I	II	III
Solución salina de fósforo de 2 mgL ⁻¹ (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 ⁻¹	0	0,1	0,2	0,5

Esperar 20 min y efectuar las lecturas en el espectrofotómetro a la longitud de onda de 690 nm en cubetas de 10 cm. Construir la curva de calibración (Figura 77):

Matraces	P (mgL ⁻¹)	Absorbancia	Absorbancia corregida
T	0,0	0,0060	0,000

I	0,1	0,0065	0,005
II	0,2	0,0185	0,125
III	0,5	0,0505	0,445

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 de correlación lineal (r^2) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

• Procedimiento para cuantificar fosfatos en la muestra

Introducir 20 mL de la muestra a analizar en un matraz aforado de 25 mL, añadir 4 mL de reactivo indicador, completar el volumen a 25 mL con agua destilada. Esperar 20 minutos y efectuar la lectura en el espectrofotómetro a la longitud de onda de 690 nm en cubetas de 10 cm. Tener en cuenta el valor leído para el testigo. Obtener los resultados en la curva de calibración.

• Expresión de los resultados

Para una muestra de 20 mL, el contenido de fósforo se expresa en mgL^{-1} .

Anexo 4

Curva de calibración y ecuación lineal para determinar la concentración de fósforo solubilizado por las cepas nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar

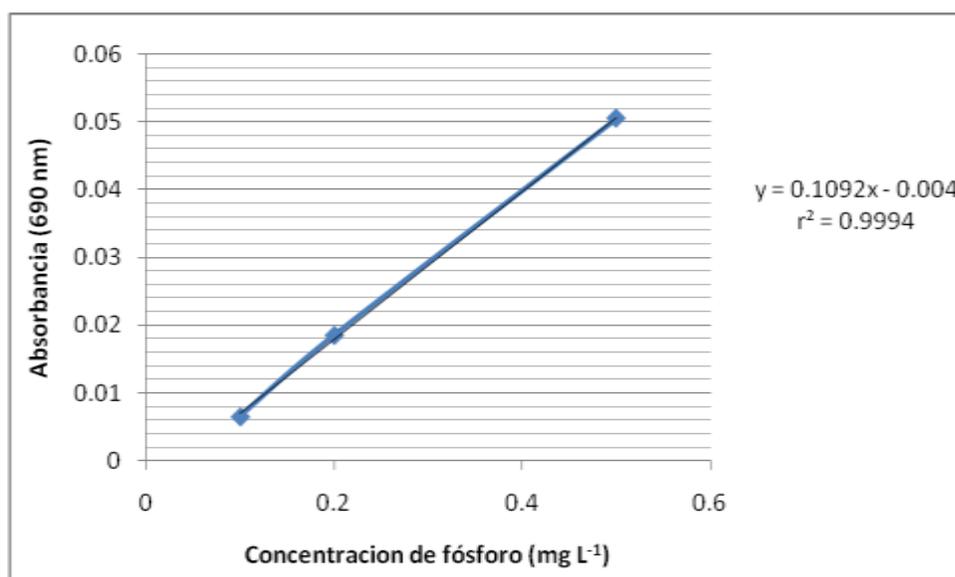


Figura 46. Recta patrón para determinar la concentración de fósforo solubilizado

En la ecuación obtenida:

$$Y = 0,1092X - 0,004$$

Donde:

y = absorbancia leída (variable dependiente)

x = fósforo (mgL⁻¹) (variable independiente)

$r^2 = 0,9994 > 0,9$; acepta el uso de la ecuación obtenida como un patrón de referencia para el cálculo de fósforo.

Despejar "x" para obtener una ecuación con la que se determina la concentración de fósforo solubilizado por las cepas nativas:

$$X = (Y + 0,004)/0,1092$$



Anexo 5

Diluciones para determinar la curva de calibración para cuantificar fósforo soluble

Figura 47. Diluciones sucesivas de una solución madre de fosfato monopotásico ($0,2 \text{ gL}^{-1}$) mas reactivo indicador para obtener la curva de calibración.

Anexo 6

Características diferenciales de los géneros de bacterias Gram negativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar

	<i>Acinetobacter</i>	<i>Enterobacter</i>
Tinción Gram	-	-
Oxidasa	-	-
Catalasa	+	+
Metabolismo Oxidativo-Fermentativo	O	OF
Utilización de citrato	+	+
Descarboxilación de lisina	-	-
Formación de indol	-	-

Hidrólisis de gelatina	-	-
Hidrólisis de urea		-
Reducción de nitratos	+	+
Formación de H₂S		-
Arabinosa (acidez)	+	+
Glucosa	A	AG
Lactosa	-	+
Rojo de metilo		+
Voges Proskawer		+
Forma de célula	cb/c	b

**Características diferenciales del género de bacteria Gram positiva
solubilizadora de roca fosfórica de Bayóvar**

	<i>Micrococcus</i>
Tinción Gram	+
Catalasa	+
Esporas	-
Utilización de citrato	
Formación de indol	

Hidrólisis de gelatina	+(-)
Formación de acetoina	-
Descarboxilación de lisina	
Glucosa (acidez-gas)	A
Manitol (acidez)	
Xilosa (acidez)	-(+)
Metabolismo OF	O
Reducción de nitratos	-(+)
Motilidad	-

Anexo 7

Calculo de roca fosfórica de Bayóvar para la fertilización química en el cultivo de *Zea mays* L. “maíz” en invernadero

Para el cultivo de maíz se necesitan 100 unidades de fósforo (UP) por hectárea (1 ha = 10 000 m²). La roca fosfórica de Bayóvar utilizada contiene 30 UP. Para adicionar la cantidad adecuada de fósforo realizar el siguiente cálculo:

Área de la superficie del suelo en las macetas:

$$0,025446 \text{ m}^2$$

$$100 \text{ Kg roca fosfórica} \text{ -----} > 30 \text{ UP}$$

$$X \text{ -----} > 100 \text{ UP}$$

$$X = 333,333 \text{ Kg roca fosfórica}$$

$$\text{En } 333,333 \text{ Kg roca fosfórica} \text{ -----} > 10\,000 \text{ m}^2$$

$$X \text{ -----} > 0,025446 \text{ m}^2$$

$$X = 0,848 \text{ g de Roca fosfórica}$$

- Aplicar 0,848 g de roca fosfórica en cada maceta según los tratamientos en estudio.

Anexo 8

Valores promedios de la concentración de fosforo soluble (mg L^{-1}) en caldo SRSM cultivado con 126 bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en diferentes tiempos de incubación

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Tiempos de incubación (horas)				
	24	48	72	96	120
CD001	4,98	16,93	12,26	8,28	8,83
CD002	8,55	3,88	11,58	5,26	4,84
CD003	*	*	*	*	*
CD004	0,45	7,04	8,00	8,83	10,34
CD005	7,18	11,44	16,52	13,64	14,32
CD006	*	*	*	*	*
CD007	*	*	*	*	*
CD008	1,82	7,32	10,20	8,55	9,38
CD009	8,28	8,55	11,85	11,16	11,58
CD010	6,49	5,94	12,26	16,25	15,15
CD011	9,24	10,61	6,91	15,97	16,80
CD012	3,61	3,61	11,85	17,34	5,26
CD013	11,71	11,30	11,71	5,53	17,21
CD014	9,24	11,71	22,43	17,89	21,88
CD015	2,37	4,84	10,75	8,69	17,21
CD016	*	*	*	*	*
CD017	*	*	*	*	*
CD018	*	*	*	*	*
CD019	9,79	11,58	26,55	14,60	17,62
CD020	6,63	6,91	10,48	9,24	8,00
CD021	3,06	2,23	17,48	4,71	3,20
CD022	*	*	*	*	*
CD023	4,43	3,20	11,58	3,61	3,06
CD024	2,10	3,33	13,77	10,34	9,65
CD025	3,88	2,92	4,16	4,84	2,51
CD026	12,13	8,14	2,51	4,43	2,37
CD027	*	*	*	*	*

CD028	8,28	6,91	24,76	18,72	22,56
CD029	3,20	8,97	12,40	12,26	15,01
CD030	8,83	7,87	21,05	13,36	15,28

Continuación (...)

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Tiempos de incubación (horas)				
	24	48	72	96	120
CD031	7,04	13,22	15,28	18,99	15,01
CD032	*	*	*	*	*
CD033	3,20	10,34	20,78	18,03	15,56
CD034	6,63	5,94	15,42	7,45	10,06
CD035	11,16	11,16	18,17	20,09	19,82
CD036	6,77	3,47	4,16	16,38	12,26
CD037	*	*	*	*	*
CD038	9,24	8,00	15,97	38,91	13,91
CD039	11,85	13,36	27,51	26,96	18,03
CD040	5,39	3,88	23,53	36,16	11,30
CD041	32,32	20,50	36,58	31,91	32,45
CD042	5,67	12,67	39,05	35,75	13,22
CD043	2,51	5,94	6,91	27,51	16,66
CD044	32,04	13,09	38,50	35,75	17,21
CD045	*	*	*	*	*
CD046	*	*	*	*	*
CD047	31,49	13,91	17,89	24,76	22,98
CD048	16,25	6,91	2,78	13,77	11,30
CD049	14,60	2,78	21,19	18,99	3,47
CD050	4,98	4,30	36,16	32,73	17,76
CD051	7,59	11,71	6,91	28,33	24,08
CD052	13,50	23,94	39,87	47,70	49,21
CD053	7,04	4,43	8,00	20,23	10,34
CD054	*	*	*	*	*
CD055	*	*	*	*	*
CD056	7,18	3,06	15,42	19,54	31,49
CD057	14,73	19,41	31,63	38,91	14,46
CD058	0,31	8,55	17,34	25,04	17,76
CD059	7,87	3,20	11,58	16,80	8,00
CD060	3,75	5,12	22,56	29,71	11,30
CD061	*	*	*	*	*

CD062	22,15	22,15	15,15	34,65	26,41
CD063	*	*	*	*	*
PM064	4,57	8,97	9,65	25,17	20,50
PM065	*	*	*	*	*

Continuación (...)

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Tiempos de incubación (horas)				
	24	48	72	96	120
PM066	4,84	4,43	5,12	7,45	9,38
PM067	5,67	11,03	13,36	17,21	39,05
PM068	4,43	3,20	2,51	6,91	11,16
PM069	*	*	*	*	*
PM070	5,12	13,09	17,89	24,76	41,11
PM071	*	*	*	*	*
PM072	8,14	7,04	6,22	21,05	25,59
PM073	14,05	14,32	9,52	16,52	29,16
PM074	*	*	*	*	*
PM075	5,67	6,91	7,59	19,27	19,68
PM076	4,57	4,43	1,27	4,16	6,63
PM077	*	*	*	*	*
PM078	7,32	7,45	3,88	13,77	21,33
PM079	2,37	2,23	1,27	7,04	14,87
PM080	3,61	2,37	0,72	2,78	5,53
PM081	9,38	2,23	2,10	15,42	28,75
PM082	6,22	3,88	8,97	20,78	24,63
PM083	5,67	4,57	3,88	5,39	9,38
PM084	*	*	*	*	*
PM085	*	*	*	*	*
PM086	4,57	2,92	1,55	6,91	7,59
PM087	2,78	2,23	1,55	4,02	4,30
PM088	1,55	1,82	1,82	3,47	5,26
PM089	*	*	*	*	*
PM090	6,08	4,30	2,51	11,16	18,03

PM091	4,98	4,16	4,02	10,89	15,83
PM092	5,81	6,22	5,94	12,13	17,48
PM093	15,70	9,10	6,08	10,06	13,64
PM094	4,02	2,37	3,20	9,52	15,42
PM095	*	*	*	*	*

Continuación (...)

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Tiempos de incubación (horas)				
	24	48	72	96	120
PM101	7,04	5,39	3,88	15,42	14,87
PM102	8,28	11,71	3,06	8,14	25,59
PM103	*	*	*	*	*
PM104	3,33	5,39	3,61	8,14	17,76
PM105	1,82	2,10	1,14	2,23	5,53
PM106	4,16	3,61	1,82	8,42	7,04
PM107	*	*	*	*	*
PM108	1,96	4,02	4,02	4,57	7,32
PM109	4,71	1,82	1,55	4,57	4,84
PM110	4,98	3,75	2,78	5,67	6,77
PM111	2,78	1,82	0,86	4,02	4,16
PM112	*	*	*	*	*
PM113	7,73	0,72	1,00	2,78	4,02
PM114	4,84	17,21	27,10	27,37	45,09
PM115	6,77	4,57	4,71	4,71	7,04
PM116	5,39	4,84	4,57	6,91	11,16
PM117	7,18	6,22	5,39	9,52	9,93
PM118	13,64	14,60	8,69	12,26	17,89
PM119	*	*	*	*	*
PM120	*	*	*	*	*
PM121	4,98	2,78	1,41	4,57	6,49
PM122	10,20	9,52	4,84	11,03	12,54
PM123	13,36	23,11	21,05	22,02	31,49
PM124	*	*	*	*	*
PM125	*	*	*	*	*

(*) No se pudo cuantificar el fósforo soluble.

Anexo 9

Valores promedio de pH en caldo SRSM cultivado con ciento veintiséis cepas nativas de bacterias solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar en diferentes tiempos de incubación

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Tiempos de incubación (horas)				
	24	48	72	96	120
CD001	4,8	4,7	4,7	4,7	4,8
CD002	6,5	6,3	6,3	6,3	6,0
CD003	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD004	4,8	4,7	4,7	4,7	5,2
CD005	4,8	4,7	5,2	4,8	4,8
CD006	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD007	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD008	4,8	4,7	4,7	4,7	4,7
CD009	4,8	4,7	5,0	4,8	4,8
CD010	4,8	4,7	4,9	4,9	5,0
CD011	4,8	4,7	4,8	4,8	4,3
CD012	6,5	6,3	6,3	5,5	6,0
CD013	4,8	4,7	4,7	6,0	4,7
CD014	4,8	4,7	4,8	4,8	5,0
CD015	6,5	6,3	6,5	6,0	5,8
CD016	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD017	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD018	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD019	4,8	4,7	4,8	4,8	4,8

CD020	4,8	4,7	4,7	4,7	4,8
CD021	6,5	6,3	6,5	6,3	6,0
CD022	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD023	6,5	6,3	6,5	6,3	6,0
CD024	4,8	4,7	4,7	4,7	4,8
CD025	5,5	5,2	5,2	4,9	4,8
CD026	5,5	5,0	5,0	4,9	4,8
CD027	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD028	4,8	4,8	4,2	4,2	4,2
CD029	5,5	5,2	5,2	5,2	5,0
CD030	4,8	4,7	4,7	4,7	4,8

Continuación (...)

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Tiempos de incubación (horas)				
	24	48	72	96	120
CD031	4,8	4,6	4,2	4,2	4,2
CD032	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD033	4,5	4,5	4,3	4,3	4,3
CD034	5,5	5,2	5,0	4,9	5,0
CD035	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD036	5,5	5,1	4,8	4,7	4,8
CD037	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD038	5,5	5,2	5,2	5,2	5,2
CD039	5,5	5,2	5,0	4,8	4,8
CD040	5,5	5,0	5,0	4,8	4,8
CD041	5,5	4,9	4,9	4,9	4,8
CD042	5,5	4,9	4,9	4,8	4,8
CD043	6,5	6,5	6,5	6,5	5,5
CD044	5,5	5,2	5,2	5,0	5,0
CD045	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD046	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD047	6,5	6,5	6,5	6,5	6,0
CD048	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5
CD049	6,5	6,5	6,5	6,5	6,0
CD050	5,0	5,0	4,8	4,8	4,8
CD051	6,5	6,5	6,5	6,5	6,0
CD052	4,8	4,5	4,5	4,5	4,3

CD053	6,5	6,5	6,5	6,0	6,0
CD054	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD055	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD056	5,5	5,2	5,2	5,0	4,8
CD057	5,5	5,5	5,7	5,3	5,3
CD058	6,5	6,5	6,5	6,5	4,8
CD059	6,5	6,5	6,3	6,0	5,8
CD060	4,8	4,8	4,8	4,7	4,7
CD061	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
CD062	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8
CD063	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM064	6,5	6,5	6,5	6,5	6,2
PM065	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5

Continuación (...)

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Tiempos de incubación (horas)				
	24	48	72	96	120
PM066	4,8	4,7	4,7	4,7	4,6
PM067	4,8	4,7	4,7	4,7	4,7
PM068	4,8	4,7	4,7	4,7	4,6
PM069	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM070	4,8	4,7	4,7	4,7	4,6
PM071	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM072	5,6	5,5	5,5	4,8	4,8
PM073	5,5	5,5	5,5	5,0	5,0
PM074	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM075	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
PM076	4,7	4,7	4,7	4,6	4,6
PM077	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM078	5,5	5,5	5,5	4,8	4,8
PM079	5,3	5,3	5,3	4,8	4,8
PM080	5,8	4,8	4,8	4,8	4,8
PM081	5,8	5,8	5,8	6,5	5,5
PM082	4,8	4,8	4,8	4,7	4,7
PM083	4,7	4,7	4,7	4,6	4,6
PM084	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM085	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM086	5,9	4,8	4,8	4,8	4,8

PM087	5,0	4,8	4,8	4,8	4,8
PM088	5,5	4,8	4,8	4,8	4,8
PM089	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM090	5,5	4,8	4,8	4,8	4,8
PM091	5,5	5,5	5,5	5,5	5,0
PM092	4,9	4,7	4,7	4,7	4,7
PM093	6,5	6,5	6,5	6,5	6,0
PM094	5,5	5,5	5,5	5,0	4,8
PM095	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM096	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM097	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM098	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
PM099	4,6	4,7	4,7	4,7	4,7
PM100	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5

Continuación (...)

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Tiempos de incubación (horas)				
	24	48	72	96	120
PM101	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM102	5,5	5,5	5,5	4,8	4,8
PM103	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM104	6,5	6,5	6,5	5,0	5,0
PM105	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8
PM106	5,5	5,5	5,5	4,8	4,8
PM107	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM108	4,8	4,7	4,7	4,7	4,7
PM109	5,5	4,8	4,8	5,5	5,0
PM110	4,7	4,6	4,6	4,6	4,6
PM111	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM112	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM113	6,5	6,5	6,5	6,5	6,0
PM114	4,8	4,7	4,7	4,7	4,7
PM115	6,5	6,5	6,5	5,8	5,0
PM116	5,5	5,5	5,5	5,0	4,8

PM117	6,5	5,5	5,5	4,8	4,8
PM118	6,5	5,5	5,5	4,8	4,8
PM119	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM120	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM121	6,5	6,5	6,5	5,5	5,5
PM122	6,5	6,5	6,5	4,8	4,8
PM123	5,5	5,5	5,5	5,0	4,8
PM124	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM125	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
PM126	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5

Anexo 10

Eficiencia (%) de solubilización de fósforo *in vitro* de 126 bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar cultivados en caldo SRSM a 28°C ($P_i = 100 \text{ mg L}^{-1}$)

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Fósforo solubilizado (mg L^{-1})	Sf	Eficiencia (%)
CD001	16,93	83,07	16,93
CD002	11,58	88,43	11,58
CD003	0,00	100,00	0,00
CD004	10,34	89,66	10,34
CD005	16,52	83,48	16,52
CD006	0,00	100,00	0,00
CD007	0,00	100,00	0,00
CD008	10,20	89,80	10,20
CD009	11,85	88,15	11,85
CD010	16,25	83,76	16,25
CD011	16,80	83,21	16,80
CD012	17,34	82,66	17,34

CD013	17,21	82,79	17,21
CD014	22,43	77,57	22,43
CD015	17,21	82,79	17,21
CD016	0,00	100,00	0,00
CD017	0,00	100,00	0,00
CD018	0,00	100,00	0,00
CD019	26,55	73,45	26,55
CD020	10,48	89,52	10,48
CD021	17,48	82,52	17,48
CD022	0,00	100,00	0,00
CD023	11,58	88,43	11,58
CD024	13,77	86,23	13,77
CD025	4,84	95,16	4,84
CD026	12,13	87,88	12,13
CD027	0,00	100,00	0,00
CD028	24,76	75,24	24,76
CD029	15,01	84,99	15,01
CD030	21,05	78,95	21,05

Continuación (...)

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Fósforo solubilizado (mg L⁻¹)	Sf	Eficiencia (%)
CD031	18,99	81,01	18,99
CD032	0,00	100,00	0,00
CD033	20,78	79,22	20,78
CD034	15,42	84,58	15,42
CD035	20,09	79,91	20,09
CD036	16,38	83,62	16,38
CD037	0,00	100,00	0,00
CD038	38,91	61,09	38,91
CD039	27,51	72,49	27,51
CD040	36,16	63,84	36,16
CD041	36,58	63,43	36,58
CD042	39,05	60,95	39,05
CD043	27,51	72,49	27,51
CD044	38,50	61,50	38,50
CD045	0,00	100,00	0,00

CD046	0,00	100,00	0,00
CD047	31,49	68,51	31,49
CD048	16,25	83,76	16,25
CD049	21,19	78,81	21,19
CD050	36,16	63,84	36,16
CD051	28,33	71,67	28,33
CD052	49,21	50,79	49,21
CD053	20,23	79,77	20,23
CD054	0,00	100,00	0,00
CD055	0,00	100,00	0,00
CD056	31,49	68,51	31,49
CD057	38,91	61,09	38,91
CD058	25,04	74,96	25,04
CD059	16,80	83,21	16,80
CD060	29,71	70,29	29,71
CD061	0.000	100.000	0.000
CD062	34.652	65.348	34.652
CD063	0.000	100.000	0.000
PM064	25.174	74.826	25.174
PM065	0.000	100.000	0.000

Continuación (...)

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Fósforo solubilizado (mg L⁻¹)	Sf	Eficiencia (%)
PM066	9,38	90,62	9,38
PM067	39,05	60,95	39,05
PM068	11,16	88,84	11,16
PM069	0,00	100,00	0,00
PM070	41,11	58,89	41,11
PM071	0,00	100,00	0,00
PM072	25,59	74,41	25,59
PM073	29,16	70,84	29,16
PM074	0,00	100,00	0,00
PM075	19,68	80,32	19,68
PM076	6,63	93,37	6,63
PM077	0,00	100,00	0,00
PM078	21,33	78,67	21,33
PM079	14,87	85,13	14,87

PM080	5,53	94,47	5,53
PM081	28,75	71,26	28,75
PM082	24,63	75,38	24,63
PM083	9,38	90,62	9,38
PM084	0,00	100,00	0,00
PM085	0,00	100,00	0,00
PM086	7,59	92,41	7,59
PM087	4,30	95,71	4,30
PM088	5,26	94,74	5,26
PM089	0,00	100,00	0,00
PM090	18,03	81,97	18,03
PM091	15,83	84,17	15,83
PM092	17,48	82,52	17,48
PM093	13,64	86,36	13,64
PM094	15,42	84,58	15,42
PM095	0,00	100,00	0,00
PM096	0,00	100,00	0,00
PM097	0,00	100,00	0,00
PM098	8,69	91,31	8,69
PM099	44,27	55,73	44,27
PM100	0,00	100,00	0,00

Continuación (...)

Código de aislamiento bacteriano UNPRG	Fósforo solubilizado (mg L⁻¹)	Sf	Eficiencia (%)
PM101	15,42	84,58	15,42
PM102	25,59	74,41	25,59
PM103	0,00	100,00	0,00
PM104	17,76	82,24	17,76
PM105	5,53	94,47	5,53
PM106	8,42	91,58	8,42
PM107	0,00	100,00	0,00
PM108	7,32	92,68	7,32

PM109	4,84	95,16	4,84
PM110	6,77	93,23	6,77
PM111	4,16	95,84	4,16
PM112	0,00	100,00	0,00
PM113	7,73	92,27	7,73
PM114	45,09	54,91	45,09
PM115	7,04	92,96	7,04
PM116	11,16	88,84	11,16
PM117	9,93	90,07	9,93
PM118	17,89	82,11	17,89
PM119	0,00	100,00	0,00
PM120	0,00	100,00	0,00
PM121	6,49	93,51	6,49
PM122	12,54	87,46	12,54
PM123	31,49	68,51	31,49
PM124	0,00	100,00	0,00
PM125	0,00	100,00	0,00
PM126	0,00	100,00	0,00

Anexo 11

Análisis de varianza de valores promedios de altura al inicio de la floración (cm) de *Zea mays* L. maíz amarillo duro variedad marginal 28-T mejorado, por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero

$H_0 = u_1 = u_2 = u_3 = u_4 = u_5 = u_6 = u_7 = u_8 = u_9 = u_{10} = u_{11} = u_{12} = u_{13}$

$H_a =$ Al menos una media diferente

Fuente de Variación	GL	CM	Fc	Ft		Sign	Decisión
				(0,05)	(0,01)		
Tratamientos	12	228,70	19,35	2,15	2,96	**	Rechaza H_0
Error	26	11,82					

CV = 7,40%

Anexo 12

Análisis de varianza de valores promedios de Peso aéreo (g) de *Zea mays* L. maíz amarillo duro variedad marginal 28-T mejorado, por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero

$H_0 = u_1 = u_2 = u_3 = u_4 = u_5 = u_6 = u_7 = u_8 = u_9 = u_{10} = u_{11} = u_{12} = u_{13}$

$H_a =$ Al menos una media diferente

Fuente de Variación	GL	CM	Fc	Ft		Sign	Decisión
				(0,05)	(0,01)		
Tratamientos	12	272,90	12,97	2,15	2,96	**	Rechaza H_0

Error	26	21,04
-------	----	-------

CV = 12,58%

Anexo 13

Análisis de varianza de valores promedios de Volumen radicular (cm³) de *Zea mays* L. maíz amarillo duro variedad marginal 28-T mejorado, por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero

$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7 = \mu_8 = \mu_9 = \mu_{10} = \mu_{11} = \mu_{12} = \mu_{13}$

$H_a =$ Al menos una media diferente

Fuente de Variación	GL	CM	Fc	Ft		Sign	Decisión
				(0,05)	(0,01)		
Tratamientos	12	228,70	19,35	2,15	2,96	**	Rechaza H_0
Error	26	11,82					

CV = 7,40%

Anexo 14

Análisis de varianza de valores promedios de Peso radicular (g) de *Zea mays* L. maíz amarillo duro variedad marginal 28-T mejorado, por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero

$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7 = \mu_8 = \mu_9 = \mu_{10} = \mu_{11} = \mu_{12} = \mu_{13}$

$H_a =$ Al menos una media diferente

Fuente de Variación	GL	CM	Fc	Ft		Sign	Decisión
				(0,05)	(0,01)		
Tratamientos	12	5,76	10,96	2,15	2,96	**	Rechaza H ₀
Error	26	0,53					

CV = 9,24%

Anexo 15

Análisis de varianza de valores promedios de Diámetro del tallo (cm) de *Zea mays* L. maíz amarillo duro variedad marginal 28-T mejorado, por efecto de bacterias nativas solubilizadoras de roca fosfórica de Bayóvar y tres testigos en invernadero

H₀ = u₁ = u₂ = u₃ = u₄ = u₅ = u₆ = u₇ = u₈ = u₉ = u₁₀ = u₁₁ = u₁₂ = u₁₃

H_a = Al menos una media diferente

Fuente de Variación	GL	CM	Fc	Ft		Sign	Decisión
				(0,05)	(0,01)		
Tratamientos	12	0,28	7,65	2,15	2,96	**	Rechaza H ₀
Error	26	0,03					

CV = 4,14%

