



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



**Bacterias rizosféricas de *Aloe vera* (L.) Burm. f.
como potenciales promotores de crecimiento
en *Raphanus sativus* L. bajo estrés salino**

TESIS

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

PRESENTADA POR:

Bach. Elmy Julihna Santos Cano

Bach. Kiara Ibely Carmen Calle

ASESORA:

Dra. Carmen Carreño Farfán

LAMBAYEQUE, PERÚ

2021

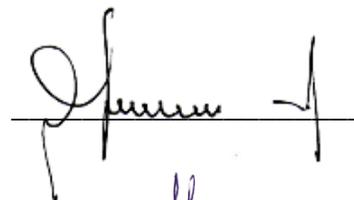
**Bacterias rizosféricas de *Aloe vera* (L.) Burm. f. como
potenciales promotores de crecimiento en *Raphanus
sativus* L. bajo estrés salino**

TESIS

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

APROBADA POR:

Dr. Guillermo Eduardo Delgado Paredes



PRESIDENTE

Dra. Gianina Llontop Barandiaran



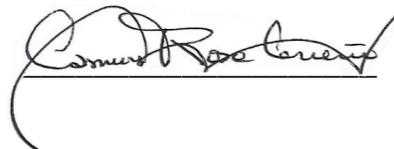
SECRETARIA

Lic. Julio César Silva Estela



VOCAL

Dra. Carmen Carreño Farfán



ASESORA

LAMBAYEQUE, PERÚ

2021

AGRADECIMIENTO

Principalmente a Dios, por ser el inspirador y darnos fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados, por poner a personas que nos llenaron consejos para crecer como personas y profesionales y asimismo por brindarnos las fuerzas para terminar nuestra carrera.

A nuestros padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes hemos logrado llegar hasta aquí y convertirnos en lo que somos. Ha sido el orgullo y el privilegio de ser sus hijas, son los mejores padres.

A la Dra. Carmen Carreño Farfán, por su paciencia y constancia, sin ella este trabajo no hubiera sido fácil de lograrlo. Sus consejos fueron siempre útiles, usted ha parte importante de esta historia con sus aportes profesionales que la caracterizan. Muchas gracias por sus múltiples palabras de aliento, cuando más lo necesitábamos, gracias por sus orientaciones necesarias para el desarrollo de la investigación.

DEDICATORIAS

A mi Dios por darme las fuerzas y voluntad para seguir adelante, guiándome siempre por el camino correcto.

A mis padres Cirilo Santos y Eleida Cano por su amor, comprensión y apoyo incondicional, por ser el motivo para seguir superándome; y a mi hermano Heber Santos por ese apoyo que siempre me alienta a seguir adelante.

A mis maestros, por sus sabias palabras, inmenso apoyo incondicional y sus conocimientos a lo largo de esta investigación.

Elmy Julihna Santos Cano

Agradezco a mi Padre Celestial por su gran amor y el plan que tiene para todos nosotros.

A mis padres Carlos Lozano y Rina Carmen por su apoyo y guía constante en este arduo pero gratificante camino llamado vida.

A mis queridos maestros, por su aporte en el conocimiento, en especial a la Dr. Carmen Carreño por su apoyo incondicional en nuestro trabajo, por su gran ejemplo de docencia y entrega en la investigación

Kiara Ibely Carmen Calle

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN		15
II. MARCO TEÓRICO.....		17
2.1 Antecedentes de la investigación		17
2.2 Base teórica.....		19
III. MATERIALES Y MÉTODOS		22
3.1 Materiales		22
3.1.1 Material biológico.....		22
3.1.2 Población y muestra		22
3.2 Métodos.....		22
3.2.1 Variable de la fase descriptiva.....		22
3.2.2 Variables de la fase explicativa		22
3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis		23
3.2.4 Lugar de muestreo y obtención de muestras		23
3.2.5 Identificación de la actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio en las bacterias aisladas de la rizósfera de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.		30
3.2.6 Identificación fenotípica del género de las rizobacterias.....		32
3.2.7 Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación de semillas <i>R. sativus</i> L. bajo estrés salino		32
3.2.8 Efecto de bacterias rizosféricas en el desarrollo de <i>Raphanus sativus</i> L. sin y con estrés salino		34
3.2.9 Análisis estadístico de los datos		38
IV. RESULTADOS.....		40
4.1 Actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio en las bacterias rizosféricas de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f. en Lambayeque, 2019...		40
4.2 Identificación fenotípica del género de las rizobacterias		40

4.3 Efecto de bacterias rizosféricas con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio en la germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino.....	53
4.4 Comparación del efecto de cuatro bacterias rizosféricas en la emergencia y desarrollo de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino y salino	53
4.4.1 Suelo no salino	57
4.4.2 Suelo salino	64
V. DISCUSIÓN.....	72
VI. CONCLUSIÓN.....	78
VII. RECOMENDACIONES.....	79
VIII. REFERENCIAS	80
IX. ANEXOS.....	80

Índice de tablas

Tabla 1. Posición de los puntos de muestreo en las plantas de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f. en los distritos de San José, Chongoyape y Oyotún, región Lambayeque, 2019.....	29
Tabla 2. Análisis físico químico de suelo no salino procedente Mochumí en Lambayeque, 2020.....	36
Tabla 3. Análisis físico químico de suelo salino procedente de San José en Lambayeque, 2020.....	36
Tabla 4. Frecuencia de morfotipos de bacterias rizosféricas, según características de la colonia en agar Plate Count, Lambayeque 2019.....	41
Tabla 5. Frecuencia de morfotipos de bacterias rizosféricas, según características de la colonia en agar MacConkey, Lambayeque 2019.....	42
Tabla 6. Número de morfotipos de colonias de bacterias en agar Plate Count aisladas de suelo rizosférico de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.....	43
Tabla 7. Número de morfotipos de colonias de bacterias en agar MacConkey aisladas de suelo rizosférico de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.....	43
Tabla 8. Frecuencia de bacterias según la forma y reacción a la tinción de Gram, aisladas de suelo rizosférico de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f. en dos medios de cultivo, Lambayeque 2019.....	44
Tabla 9. Absorbancia (600nm) de medios mínimo Dworkin & Foster con ACC y sulfato de amonio como fuentes de nitrógeno cultivados con rizobacterias, Lambayeque 2019.....	50
Tabla 10. Características diferenciales de rizobacterias aisladas de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm.f., Lambayeque 2019.....	52
Tabla 11. Porcentaje de germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino por efecto de bacterias rizosféricas, Lambayeque 2019.....	54
Tabla 12. Tasa de germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino por efecto de rizobacterias en Lambayeque, 2019.....	55

Tabla 13. Rango de valores en la emergencia y desarrollo de <i>Raphanus sativus</i> L. inoculado con <i>Bacillus</i> spp. en suelos no salino y salino.....	56
Tabla 14. Emergencia de plántulas de <i>Raphanus sativus</i> L. por efecto de <i>Bacillus</i> spp. en suelo no salino.....	58
Tabla 15. Altura de plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino por efecto de <i>Bacillus</i> spp.	58
Tabla 16. Índices de efectividad de <i>Bacillus</i> spp. en la altura de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino.....	61
Tabla 17 Índices de efectividad de <i>Bacillus</i> spp. en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino.....	61
Tabla 18 Índices de efectividad de <i>Bacillus</i> spp. en el peso de raíces de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo no salino.....	61
Tabla 19. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios de altura de <i>Raphanus sativus</i> L., a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. en suelo no salino.....	63
Tabla 20. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios del número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. en suelo no salino	63
Tabla 21. Emergencia de plántulas de <i>Raphanus sativus</i> L. por efecto de <i>Bacillus</i> spp. en suelo salino.....	65
Tabla 22. Altura de plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino por efecto <i>Bacillus</i> spp.	65
Tabla 23. Índices de efectividad de <i>Bacillus</i> spp. en la altura de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino.....	65
Tabla 24. Índices de efectividad de bacterias rizosféricas en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino	68
Tabla 25. Índices de efectividad de <i>Bacillus</i> spp. en el peso de raíces de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo salino.....	68
Tabla 26. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios de altura de <i>Raphanus sativus</i> L. a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. en un suelo salino	70

- Tabla 27.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios del número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de *Raphanus sativus* L., 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo salino 70
- Tabla 28.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey del contenido de clorofila (SPAD) en las hojas de *Raphanus sativus* L., 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo salino 71

Índice de figuras

Figura 1. Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de rizobacterias en <i>Rhaphanus sativus</i> L.	24
Figura 2. Ubicación del distrito de San José de Lambayeque, región Lambayeque, 2019 (https://www.google.com/maps/place/Pueb+San+Jose/@-6.766674,-79.9710052,16z).	25
Figura 3. Ubicación de la Reserva Ecológica de Chaparrí, distrito de Chongoyape, región Lambayeque, 2019. (https://www.google.com/maps/place/Reserva+Ecolologica+Chaparrí/@-6.6976837,79.6378326,10z)	25
Figura 4. Ubicación del distrito de Oyotún, región Lambayeque, 2019 (https://www.google.com/maps/place/Oyotún/@-6.8504174,-79.3083476,11.92z)	27
Figura 5. <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., en la Comunidad Campesina de San José, distrito de San José de Lambayeque, región Lambayeque, 2019.....	27
Figura 6. <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., en la Reserva Ecológica de Chaparrí, distrito de Chongoyape, región Lambayeque, 2019.....	28
Figura 7. <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., en el distrito de Oyotún, región Lambayeque, 2019	28
Figura 8. Tratamiento térmico del suelo rizosférico de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.....	31
Figura 9. Prueba de germinación de semillas de <i>Rhaphanus sativus</i> inoculadas con bacterias rizosféricas bajo estrés salino, Lambayeque 2019	33
Figura 10. Macetas acondicionadas con el suelo experimental, Lambayeque 2019	37
Figura 11. Medición de la altura de <i>Rhaphanus sativus</i> L., Lambayeque 2019	39
Figura 12. Pesaje de la biomasa aérea de <i>Rhaphanus sativus</i> L.....	39
Figura 13. Observación microscópica (40x) de colonia irregular con borde ondulado y elevación papilada de bacteria rizosférica, de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.....	45

Figura 14. Observación microscópica (40x) de colonia irregular con borde lobulado y elevación plana de bacteria rizosférica, de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.....	45
Figura 15. Observación microscópica (40x) de colonia circular con borde entero y elevación convexa de bacteria rizosférica, de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.....	46
Figura 16. Observación microscópica (40x) de colonia filamentosa con borde filamentoso y elevación plana de bacteria rizosférica, de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019	46
Figura 17. Observación microscópica (40x) de colonia circular con borde entero, color anaranjado y elevación plana de bacteria rizosférica, de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019	47
Figura 18. Observación microscópica (100x) de bacilos Gram positivos aisladas de la rizósfera de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.....	47
Figura 19. Observación microscópica (100x) de bacilos Gram positivos esporulados, aislados de la rizósfera de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.....	48
Figura 20. Observación microscópica (100x) de cocobacilos Gram positivos, aislados de la rizósfera de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019. ...	48
Figura 21. Observación microscópica (100x) de cocos Gram positivos, aislados de la rizósfera de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.....	49
Figura 22. Observación microscópica (100x) de filamentos Gram positivos, aislados de la rizósfera de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.....	49
Figura 23. Observación microscópica (100x) de bacilos Gram negativos, aislados de la rizósfera de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.....	50
Figura 24. Bacterias rizosféricas de <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f. cultivadas en medio mínimo DF con ACC, Lambayeque 2019	51
Figura 25. Bacterias rizosféricas <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f. cultivadas en medio mínimo DF con sulfato de amonio, Lambayeque 2019.	51

Figura 26. Germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino: a) Testigo sin NaCl, b) Testigo con NaCl, c) <i>Bacillus</i> sp 188-S, d) <i>Bacillus</i> sp 67-S, Lambayeque 2019:	54
Figura 27. Germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino: a) testigo sin NaCl, b) testigo con NaCl, c) bacteria 188, d) bacteria 67, Lambayeque 2019	59
Figura 28. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 10 días después de la inoculación con bacterias rizosféricas del género <i>Bacillus</i> en suelo no salino.	59
Figura 29. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 15 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp 67-S en suelo no salino.	60
Figura 30. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 25 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp 67-S en suelo no salino	60
Figura 31. Biomasa aérea de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp 67-S en suelo no salino.	62
Figura 32. Raíces de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp 67-S en suelo no salino	62
Figura 33. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 10 días después de la inoculación con bacterias rizosféricas del género <i>Bacillus</i> en suelo salino.	66
Figura 34. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 15 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 260-S en suelo salino.	66
Figura 35. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 25 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 260-S en suelo salino	67
Figura 36. Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 260-S en suelo salino.	67
Figura 37. Biomasa aérea de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 260-S en suelo salino.	69
Figura 38. Raíces de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 260-S en suelo salino.	69

RESUMEN

En el suelo rizosférico de *Aloe vera* (L.) Burm. f. se aislaron bacterias con el objetivo de determinar el potencial como promotoras de crecimiento en plantas bajo estrés salino. Las bacterias aisladas en agar Plate Count y MacConkey, con actividad de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa y tolerancia a 10% cloruro de sodio, NaCl se inocularon en semillas de *Raphanus sativus* L. "rabanito", se determinó la tasa de germinación (80mM NaCl) y se investigó el efecto en la emergencia y desarrollo de rabanito en suelos salino ($CE=10,12\text{dsm}^{-1}$) y no salino ($CE=3,17\text{dsm}^{-1}$). En el 3,94% de las bacterias aisladas de la rizosfera de sábila se demostró la actividad de la enzima ACC desaminasa y tolerancia a 10% de NaCl y se identificaron fenotípicamente en el género *Bacillus*. La tasa de germinación fue de 18,64 - 42,61 con *Bacillus* spp., en comparación con 35 en el testigo con solución salina. Las rizobacterias del género *Bacillus* incrementaron la emergencia y desarrollo de rabanito en suelos salino y no salino, alcanzando índices de efectividad de 203,85% (altura); 66,67% (número de hojas); 54,28% (peso de biomasa aérea); 172,57% (peso de raíces) y 28,46% en el contenido de clorofila en el suelo salino. Se demostró el potencial de *Bacillus* spp. para promover el crecimiento de rabanito bajo suelo salino.

Palabras clave: *Aloe vera*, rizobacterias, promoción de crecimiento, *Raphanus sativus*, ACC desaminasa.

ABSTRACT

Bacteria were isolated in the rhizosphere of *Aloe vera* (L) Burm.f. in order to establish the potential as growth promoters in plants under salt stress. These isolated bacteria on Plate Count and McConkey agar, with the activity of enzyme 1-aminociclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase and tolerance to 10% of Sodium Chloride (NaCl) were inoculated into *Raphanus Sativus* L. seeds also called "radish". The germination rate (80mM NaCl) was determined and the effect of the emergence and development of radish in saline (CE=10,12dsm⁻¹) and non-saline (CE=3,17dsm⁻¹) soil. In 3.94% of the bacteria isolated from the rhizosphere of aloe, the activity of the enzyme ACC deaminase and tolerance to 10% NaCl and were phenotypically identified in the genus *Bacillus*. The germination rate was 18.64 – 42.61 with *Bacillus* spp compared to 35 in the saline control. The rhizobacteria from genus *Bacillus* rose the emergence and growth of radish in saline and non- saline soils reaching effectiveness rates of 203,85% (height); 66.67% (leaf number); 54,28% (aerial biomass weight); 172.57% (root weight) and 28,46% in the chlorophyll content of saline soil. The potential of *Bacillus* spp to promote the development of radish under saline soil was successfully proved.

Key Words: *Aloe vera*, rhizobacteria, growth promoter, *Raphanus sativus*, ACC deaminase.

I. INTRODUCCIÓN

La salinidad es uno de los factores más limitantes de la productividad de los cultivos agrícolas y los suelos con esta problemática se incrementan en 10% anualmente, debido a la baja precipitación, alta evaporación, riego con agua salina e inadecuadas prácticas culturales. Se estima, que en el 2050 más del 50% de las tierras cultivables en el mundo presentarán salinidad (Shrivastava y Kumar, 2015). Un suelo se considera salino cuando la conductividad eléctrica (CE) del extracto de saturación en la zona radicular excede los 4dSm^{-1} (40 mM NaCl). La salinidad induce en las plantas el estrés osmótico y la toxicidad iónica asociada a la absorción excesiva de cloruro (Cl^-) y sodio (Na^+), con deficiencia de calcio (Ca^{+2}) y potasio (K^+), entre otros nutrientes (Acosta et al., 2017).

El etileno es un regulador importante del crecimiento y desarrollo de las plantas bajo condiciones normales y desfavorables como la salinidad; no obstante, la sobreproducción ante el estrés inhibe el crecimiento vegetal o conduce a la muerte de las plantas (Molina et al., 2015; Shahzad et al., 2015). *Aloe vera* (L.) Burm. f. “sábila” es una especie adaptada a las condiciones de estrés por sequía porque mantiene el potencial hídrico en sus tejidos frente a elevadas concentraciones de sales, altas temperaturas y déficit de humedad en el suelo (Sifuentes et al., 2020).

En la rizósfera de las plantas como la sábila se encuentran bacterias promotoras de crecimiento en plantas (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) que mediante diferentes mecanismos promueven el desarrollo vegetal (Meena y Baljeet, 2017; War y Joshi, 2014). Entre estas PGPR destacan las que presentan actividad aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa (ACC desaminasa), que hidrolizan el ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) o precursor inmediato del etileno hasta α -cetobutirato y amonio, disminuyendo el nivel de etileno y los efectos del estrés

(Porto de Souza et al., 2017; Shahzad et al., 2015); no obstante, en regiones afectadas por la salinidad como Lambayeque (Soca et al., 2016) es escasa la investigación de PGPR en sábila, con la perspectiva de utilizarlas en diferentes cultivos agrícolas.

En este contexto, se realizó la siguiente investigación cuyo problema fue: ¿Cuál es el potencial como promotores de crecimiento en *Raphanus sativus* L. “rabanito” bajo estrés salino de las bacterias rizosféricas de *A. vera* (L.) Burm. f.? La hipótesis fue: Las bacterias aisladas de la rizósfera de *A. vera* (L.) Burm. f. presentan actividad ACC desaminasa y promueven la germinación y desarrollo de *Raphanus sativus* L. “rabanito” bajo estrés salino. El objetivo general fue: Determinar el potencial como promotoras de crecimiento en plantas bajo estrés salino de las bacterias aisladas de la rizósfera de *A. vera* (L.) Burm. f.

Los objetivos específicos de la investigación fueron: Identificar la actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio en las bacterias aisladas de la rizósfera de *Aloe vera* (L.) Burm. f., identificar fenotípicamente el género de las rizobacterias con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio, determinar el efecto de las rizobacterias en la tasa de germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” bajo estrés salino, comparar el efecto de las rizobacterias en la emergencia y desarrollo de rabanito en suelos no salino y salino a nivel a invernadero y determinar el contenido de clorofila en las hojas de rabanito de los dos tratamientos con los mayores índices de efectividad en el peso de las raíces.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

Suman et al. (2018) aislaron bacterias del género *Bacillus* en la rizósfera de *Mammillaria magnimamma* y *Coryphantha radians*, con el objetivo de investigar el efecto *in vitro* e *in vivo* en *Mammillaria* spp. Se identificaron cuatro aislados de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa, fijación de nitrógeno, producción de ácido indol acético y solubilización de fosfato tricálcico. Todas las bacterias aumentaron (17-34%) la germinación. *Bacillus* sp.AP24 incrementó (31%) el número de plantas de *M. zeilmanniana* y la floración durante 1 año. Se concluyó que estas bacterias pueden ser utilizadas para mejorar el desarrollo de las especies vegetales en zonas áridas.

Meena y Baljeet (2017) investigaron las características que evidencian promoción del crecimiento vegetal en *Brevibacterium frigidotolerans* SMA 23 aislada de la rizósfera de *A. vera*. Se comparó la solubilización de fosfato, producción de ácido indol acético (AIA) y sideróforos (SU) a diferentes temperaturas y se investigó el efecto en el crecimiento de *Triticum aestivum* “trigo” en condiciones de invernadero. A 10, 20, 30 y 35°C se cuantificaron 31-110 mgPmL⁻¹, 27-71 ug AIA mL⁻¹ y 15-39% SU. La bacteria incrementó la longitud radicular (68,96%), altura de plántula (70%) y biomasa (123,52%), demostrando su potencial como promotora de crecimiento.

Chávez et al. (2016) caracterizaron bacterias solubilizadoras de fosfato aisladas de la rizósfera en suelos salinos. Se investigó la tolerancia a 2-15% NaCl, producción de sideróforos, ácido cianhídrico (HCN), ácido indol acético (AIA) y actividad ACC desaminasa. Los 40 aislados de bacterias presentaron tolerancia a 15% de NaCl y se identificaron los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* y *Rhizobium*. Con estas bacterias se demostró la producción de sideróforos (35%), HCN (75%), AIA (50%) y actividad ACC desaminasa (25%). Los resultados evidenciaron el potencial de las bacterias como biofertilizantes.

Orhan (2016) investigó el potencial de bacterias halotolerantes para promover el crecimiento de *Triticum aestivum*. Las bacterias se inocularon en las semillas y se mantuvieron en medio Hoagland con 50, 100, 200 y 400 mM de NaCl en el primer ensayo y 200 mM de NaCl en el segundo ensayo. El 44% de las bacterias produjo AIA y el 33% amonio, 28% fijó nitrógeno, 55% solubilizó fosfato y 66% presentó actividad ACC desaminasa. El NaCl disminuyó 10-80% el peso de la biomasa vegetal; no obstante, las bacterias incrementaron la tasa de crecimiento (62-78%). Se demostró el potencial de las bacterias para incrementar el desarrollo de *T. aestivum* bajo estrés salino.

Angulo et al. (2014) aislaron bacterias rizosféricas y endófitas de *Eucalyptus nitens*, para determinar su capacidad de promover el crecimiento en las plántulas. Las bacterias se inocularon en las semillas a la siembra y 4 semanas después en la rizósfera. El 14,2% de bacterias incrementó el crecimiento de las plántulas alcanzando 142% en la biomasa aérea, 135% en la biomasa radicular, 50% en la altura y 45% en la longitud de las raíces. Se identificaron *Arthrobacter*, *Lysinibacillus*, *Rahnella* y *Bacillus*. Todas las bacterias produjeron índoles, el 40% solubilizó fosfato y el 6,6% presentó actividad ACC desaminasa. Se evidenció el potencial de las bacterias como promotoras de crecimiento.

Qin et al. (2014) investigaron el potencial biofertilizante de bacterias endófitas con actividad ACC desaminasa en *Limonium sinense* (Girard) Kuntze. Se determinó la producción de índoles, fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato y el efecto en la germinación y desarrollo vegetativo bajo estrés salino. En el 13,3% de bacterias se detectó actividad ACC desaminasa y entre éstas 3,96% produjo índoles; 4,7% fijó nitrógeno y 3,17% solubilizó fosfato. Las bacterias incrementaron la longitud de la raíz, altura de planta y número de hojas de las plantas desarrolladas con 100-250 nmol⁻¹ NaCl, demostrando efectividad en la protección de las plantas bajo estrés salino.

War y Joshi (2014) estudiaron la capacidad para estimular el crecimiento de las plantas en bacterias aisladas de *A. vera*. Se realizó la caracterización molecular y se determinó la solubilización de fosfatos, producción de ácido indol

acético y enzimas, fijación de nitrógeno y antagonismo a *Fusarium oxysporum* y *Emmericella nidulans*. Se obtuvieron 70 aislados bacterianos, 23 endófitos y 47 epífitos. Las especies de *Bacillus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Pantoea* y *Lysinibacillus* mostraron *in vitro* propiedades estimulantes del crecimiento vegetal y *Bacillus* spp. una significativa actividad antagónica. Se demostró el potencial de las bacterias como bioestimulantes.

2.2 Base teórica

Las bacterias que viven cerca a las raíces y son capaces de estimular el crecimiento de las plantas son denominadas rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR). Estas bacterias colonizan la superficie radicular, pueden sobrevivir, multiplicarse, competir con otros microorganismos y promover el crecimiento vegetal (Shahzad et al., 2015).

Las PGPR ejercen mecanismos directos e indirectos en la promoción de crecimiento vegetal y en su mayoría son multifuncionales, sugiriéndose que la estimulación del crecimiento es resultado de varios mecanismos, que se activan en simultáneo (Molina et al., 2015). Entre éstos destacan la actividad ACC desaminasa, la fijación de nitrógeno, la producción de fitorreguladores (ácido indol acético, giberelinas, citoquinas, etileno), la solubilización de fosfatos minerales y la actividad antagónica a microorganismos fitopatógenos (Shahzad et al., 2015).

La actividad de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa es un mecanismo directo de las PGPR, mediante el cual se regula el nivel de la fitohormona etileno. Las plantas con estrés por salinidad sintetizan y acumulan etileno, con efecto perjudicial; no obstante, los microorganismos con actividad ACC desaminasa hidrolizan el precursor o ACC convirtiéndolo en amonio y alfa cetobutirato y así disminuyen el nivel de etileno y el estrés causado por esta fitohormona (Sathya et al., 2017).

Las PGPR son clasificadas en biofertilizantes que incrementan la disponibilidad de nutrientes a las plantas; fitoestimuladores o productores de fitohormonas; rizomediadores que degradan los nutrientes orgánicos y biopesticidas que controlan a los fitopatógenos (Antoun y Prévost, 2005). En el suelo rizosférico o en las plantas se aíslan bacterias, pero no todas son promotoras de crecimiento vegetal. Esta capacidad se demuestra inoculando las bacterias en las semillas o en el suelo, bajo condiciones controladas donde las plantas inoculadas deben superar a los testigos y posteriormente se exploran a nivel molecular los mecanismos involucrados (Vivanco et al., 2016).

Las plantas son clasificadas como glicofitas o euhalofitas con base a su capacidad para crecer en condiciones salinas. El crecimiento de las glicofitas es inhibido parcial o totalmente en concentraciones de 100-200 mM NaCl. Por el contrario, las halófitas sobreviven hasta en 300-500 mM NaCl. Estas plantas regulan el contenido de sal mediante la exclusión de sal hacia el sistema vascular, eliminación de sal mediante glándulas y pelos y redistribución del sodio (Na⁺) y cloro (Cl⁻) hacia el floema (Acosta et al., 2017).

Aloe vera (L.) Burm. f. (Xanthorrhoeaceae) denominada sábila es una xerófita con metabolismo ácido de crasuláceas (MAC), cultivada en zonas áridas y semiáridas por su alta eficiencia en el uso del agua. Estas plantas tienen tejido almacenador de agua (Franco et al., 2014), generan potenciales osmóticos celulares negativos ($\leq 0,3$ MPa) y pueden absorber y almacenar el agua, superando el estrés hídrico (Sifuentes et al., 2020; García et al., 2014); no obstante, la sequía y el cultivo en lugares cercanos al mar ejercen efectos severos sobre el crecimiento, rendimiento y calidad de las plantas. Se observa pérdida de turgencia, disminución en el volumen foliar y contenido relativo de agua (CRA), problemática común en plantas suculentas bajo estrés salino o hídrico (Franco et al., 2014).

A. vera es una planta medicinal con múltiples aplicaciones en la industria médica y cosmética. El gel de la pulpa tiene más de 75 sustancias biológicamente activas como vitaminas, antraquinonas, minerales, enzimas, azúcares, lignina, saponinas, esteroides, aminoácidos y ácido salicílico

(Meena y Baljeet, 2017). Las plantas de sábila tienen valor económico industrial. Son utilizadas en el procesamiento de productos medicinales, cosméticos y alimenticios (Franco et al., 2014).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Material biológico

Bacterias aisladas del suelo rizosférico de *Aloe vera* (L.) Burm. f. “sábila” y semillas de *Raphanus sativus* L., “rabanito” var. champion.

3.1.2 Población y muestra

En la etapa descriptiva la población correspondió el suelo rizosférico de las plantas de sábila desarrolladas en los distritos de San José (provincia Lambayeque) y Chongoyape y Oyotún (provincia Chiclayo) y se investigaron 54 muestras probabilísticas colectadas durante mayo de 2019. El número de muestras fue calculado (Hernández et al., 2014) considerando una prevalencia de 90% determinada por las investigadoras en un muestreo piloto (Anexo A). En la etapa explicativa, con dos ensayos independientes en suelos no salino y salino la población y muestra no probabilística y por conveniencia correspondió a 120 plantas de rabanito.

3.2 Métodos

3.2.1 Variable de la fase descriptiva

Variables cuantitativas: Actividad ACC desaminasa, tolerancia al NaCl (7,5;10%NaCl).

3.2.2 Variables de la fase explicativa

Variables independientes: Suelos no salino y salino

Cultivos (4) de bacterias con actividad

ACC desaminasa

Variable dependiente : Emergencia y desarrollo de *Raphanus sativus* L.

3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

La investigación fue descriptiva en la primera etapa y explicativa en la segunda etapa. En la primera etapa, la hipótesis se contrastó con el Diseño de una Sola Casilla de Goode y Hatt (Alvitres, 2000). En la segunda etapa de la investigación, con el diseño completamente aleatorio DCA (Hernández et al., 2014), se realizaron dos ensayos independientes en suelos no salino y salino, cada uno con cuatro tratamientos, correspondientes a un testigo sin bacterias (T1) y cuatro cultivos de bacterias rizosféricas (T2 a T5), con tres repeticiones y 12 unidades experimentales por ensayo (Figura 1).

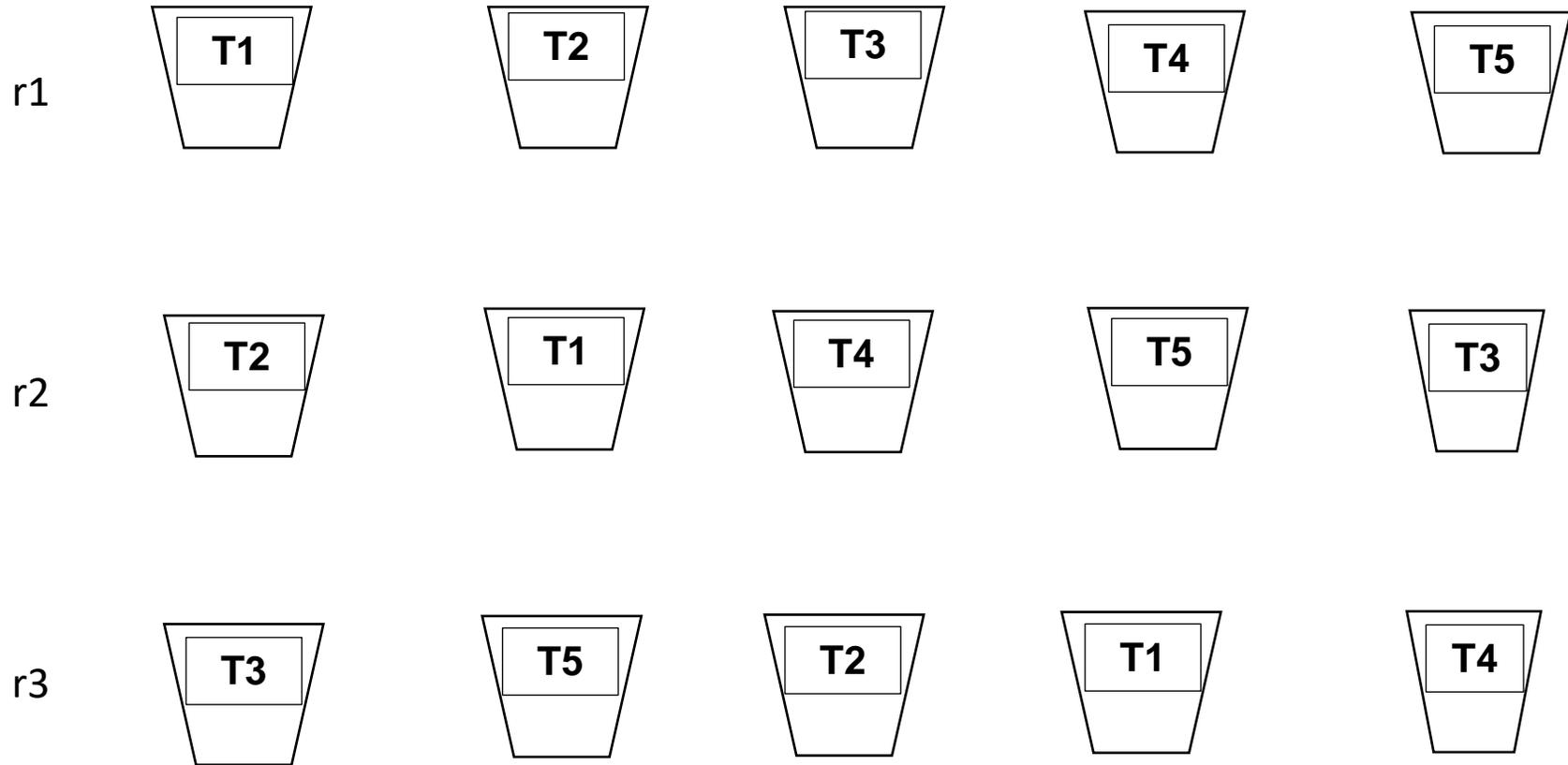
3.2.4 Lugar de muestreo y obtención de muestras

El muestreo se realizó en la Comunidad Campesina de San José, distrito de San José; en la Reserva Ecológica de Chaparrí, distrito de Chongoyape y en el distrito de Oyotún. En la Comunidad Campesina de San José, el muestreo se realizó en el sector de riego Bodegones. La comunidad se encuentra en el distrito de San José de Lambayeque comprendido entre las coordenadas geográficas 6°45'55" de latitud sur y 79°58'41" de longitud oeste. Limita por el norte con Lambayeque, por el sur con Pimentel, por el este con José Leonardo Ortiz y Chiclayo y por el oeste con el Océano Pacífico (Figura 2). La zona presenta un clima desértico subtropical, con una temperatura que fluctúa entre 25,59 a 28,27°C, con una media anual de 21°C y una humedad relativa de 72 a 95% (INDECI, 2003).

El Área de Conservación Privada Chaparrí (Figura 3) se localiza entre los 6° 31' y 6° 5' latitud sur y 79° 16' y 79° 3' longitud oeste, tiene una extensión de 34 312 hectáreas y se ubica en los territorios de la Comunidad Campesina "Santa Catalina de Chongoyape", cuya extensión es de 42 412,60 hectáreas. Esta comunidad se sitúa en el distrito de Chongoyape, provincia de Chiclayo, Región de Lambayeque y los distritos de Llama y Miracosta, provincia de Chota, departamento de Cajamarca (MINAGRI, 2002).

Figura 1

Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de rizobacterias en Rhanus sativus L.



T1: Testigo sin rizobacterias.

T2 a T4: Rizobacterias

Figura 2

Ubicación del distrito de San José de Lambayeque, región Lambayeque, 2019
(<https://www.google.com/maps/place/Pueb+San+Jose/@-6.766674,-79.9710052,16z>).

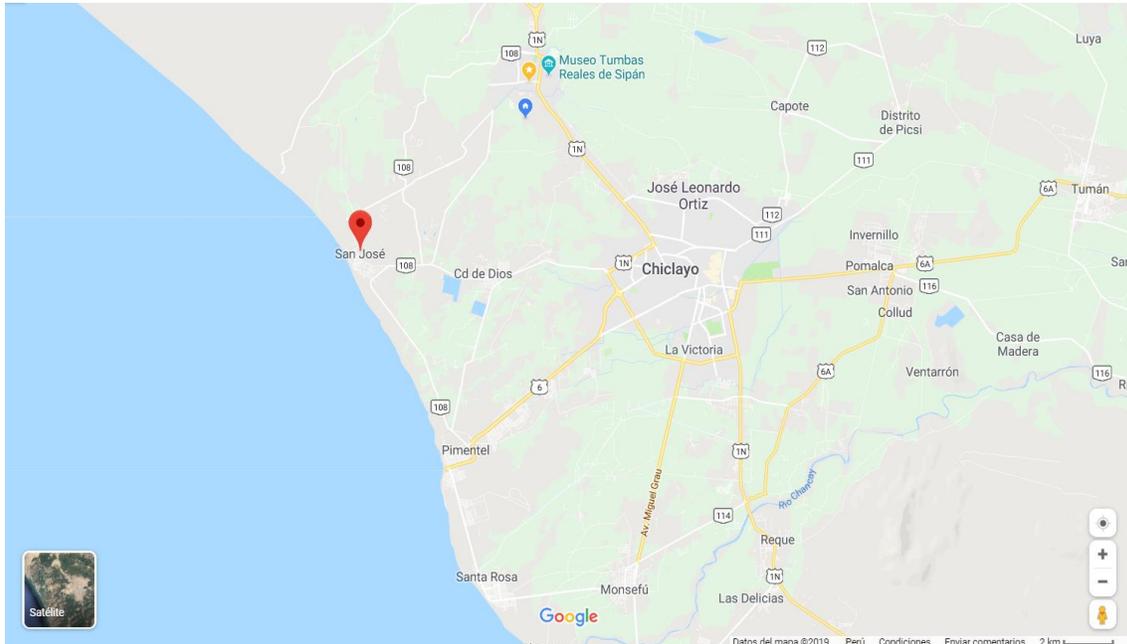
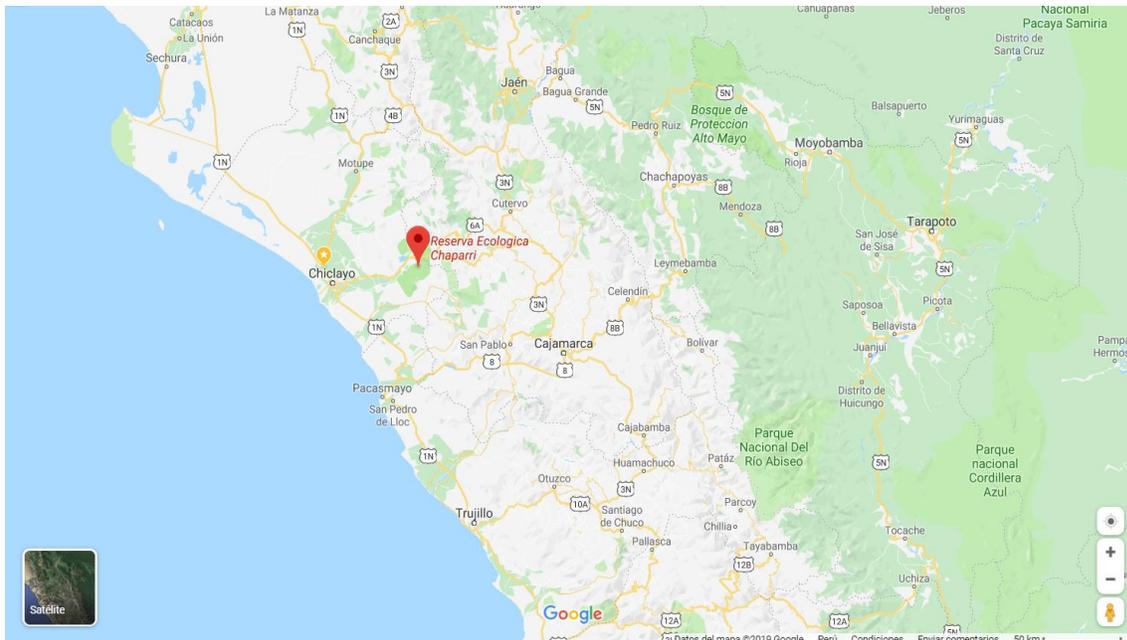


Figura 3

Ubicación de la Reserva Ecológica de Chaparrí, distrito de Chongoyape, región Lambayeque, 2019.
(<https://www.google.com/maps/place/Reserva+Ecologica+Chaparrí/@-6.6976837,79.6378326,10z>).



En el distrito de Oyotún el muestreo se realizó alrededor de las casas ubicadas fuera de la ciudad. Oyotún está comprendido entre las coordenadas geográficas latitud sur $6^{\circ} 50' 52.5''$ y $79^{\circ} 18' 3.4''$ de longitud oeste (Figura 4), en la provincia de Chongoyape, departamento de Lambayeque. Limita por el norte con el distrito de Chongoyape, por el sur con el distrito de Nueva Arica, por el este con el departamento de Cajamarca y por el oeste con los distritos de Cayaltí y Zaña (INDECI, 2018).

En los lugares de muestreo se seleccionaron plantas de sábila con una altura promedio de 0,35 a 0,50m y más de diez hojas, escogiéndose 25 plantas en la Comunidad Campesina de San José, ocho plantas en la Reserva Ecológica de Chaparrí y 21 plantas en el distrito de Oyotún (Figuras 5 a 7, tabla 1). Para la toma de muestra, con una palana se retiró el suelo hasta una profundidad de 0,20 m, suficiente para alcanzar las raíces, de donde se tomaron las muestras de raíces y suelo rizosférico adherido (0,1 kg), se depositaron en bolsas de polietileno debidamente identificadas y se transportaron en una caja térmica ($10 \pm 1^{\circ}\text{C}$) hacia el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo en Lambayeque.

En simultáneo al muestreo de raíces con suelo rizosférico de sábila para el aislamiento de bacterias rizosféricas, se colectó una muestra representativa de 2kg de suelo radicular en cada lugar de muestreo para determinar el pH y conductibilidad eléctrica (CE) en el Laboratorio Agrícola Análisis de Suelos y Agua (CYSAG). Según los resultados el suelo del sector de riego de Bodegones en la comunidad campesina de San José es neutro con un pH 6,82 y extremadamente salino con una conductividad eléctrica de (CE) $10,12 \text{ dSm}^{-1}$.

El suelo de la reserva ecológica de Chaparrí en el distrito de Chongoyape es medianamente básico con un pH 7.69 y no salino con una conductividad eléctrica (CE) de $0,4 \text{ dSm}^{-1}$. El suelo del distrito de Oyotún es neutro con un pH 6,98 y salino con una conductividad eléctrica (CE) de $4,48 \text{ dSm}^{-1}$.

Figura 4

Ubicación del distrito de Oyotún, región Lambayeque, 2019
(<https://www.google.com/maps/place/Oyotún/@-6.8504174,-79.3083476,11.92z>).

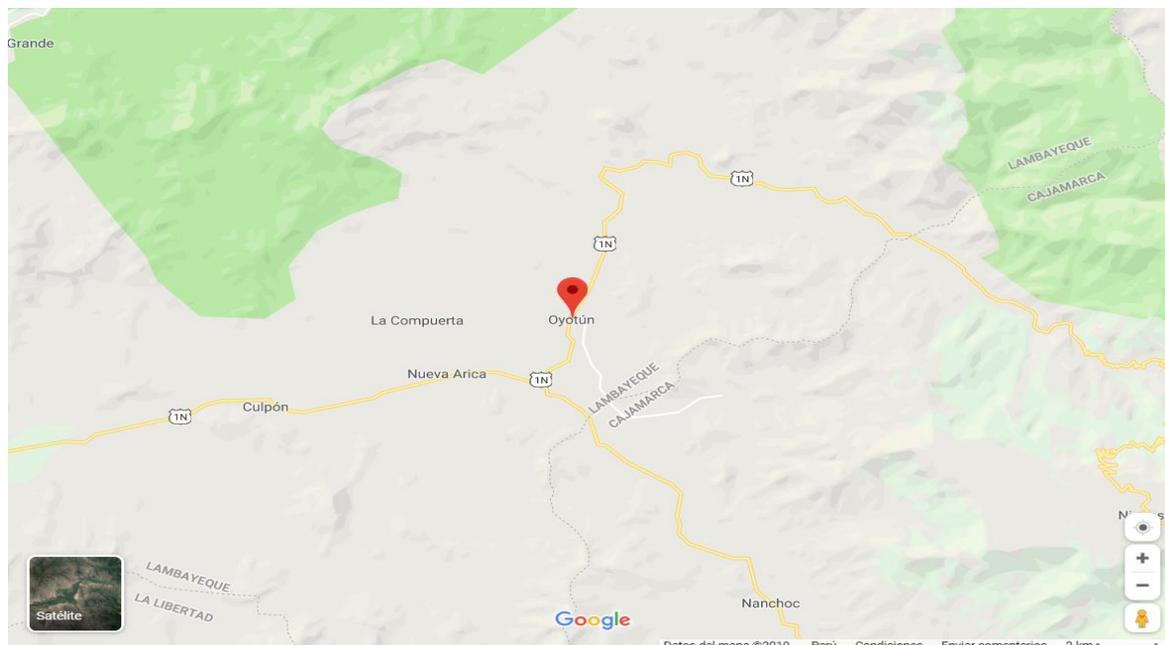


Figura 5

Aloe vera (L.) Burm. f., en la Comunidad Campesina de San José, distrito de San José de Lambayeque, región Lambayeque, 2019.



Figura 6

Aloe vera (L.) Burm. f., en la Reserva Ecológica de Chaparrí, distrito de Chongoyape, región Lambayeque, 2019.

**Figura 7**

Aloe vera (L.) Burm. f., en el distrito de Oyotún, región Lambayeque, 2019.



Tabla 1

Posición de los puntos de muestreo en las plantas de Aloe vera (L.) Burm. f. en los distritos de San José, Chongoyape y Oyotún, región Lambayeque, 2019

Lugares de muestreo	Código de muestras	Posición georeferencial
Reserva Ecológica de Chaparrí, Chongoyape, Chiclayo	M1	-6.6975407, -79.3578201 6°41'51.2"S 79°21'28.2"W 410m
	M2	-6.6975407, -79.3578201 6°41'51.2"S 79°21'28.2"W 410m
	M3	-6.6975407, -79.3578201 6°41'51.2"S 79°21'28.2"W 410m
	M4	-6.6975407, -79.3578201 6°41'51.2"S 79°21'28.2"W 415m
	M5	-6.6975407, -79.3578201 6°41'51.2"S 79°21'28.2"W 415m
	M6	-6.6975407, -79.3578201 6°41'51.2"S 79°21'28.2"W 415m
	M7	-6.6975407, -79.3578201 6°41'51.2"S 79°21'28.2"W 420m
	M8	-6.6975407, -79.3578201 6°41'51.2"S 79°21'28.2"W 420m
Distrito de San José, Comunidad Campesina de San José, Lambayeque	M9	-6.708056, -79.914444 6°42'29.0"S 79°54'52.0"W 17m
	M10	-6.708056, -79.914444 6°42'29.0"S 79°54'52.0"W 17m
	M11	-6.708056, -79.914444 6°42'29.0"S 79°54'52.0"W 17m
	M12	-6.708056, -79.914444 6°42'29.0"S 79°54'52.0"W 17m
	M13	-6.708056, -79.914444 6°42'29.0"S 79°54'52.0"W 17m
	M14	-6.708333, -79.915278 6°42'30.0"S 79°54'55.0"W 20m
	M15	-6.708333, -79.915278 6°42'30.0"S 79°54'55.0"W 20m
	M16	-6.708333, -79.915278 6°42'30.0"S 79°54'55.0"W 20m
	M17	-6.708333, -79.915278 6°42'30.0"S 79°54'55.0"W 20m
	M18	-6.708333, -79.915278 6°42'30.0"S 79°54'55.0"W 20m
	M19	-6.708333, -79.915278 6°42'30.0"S 79°54'55.0"W 20m
	M20	-6.740548, -79.949542 6°44'26.0"S 79°56'58.4"W 8m
	M21	-6.740548, -79.949542 6°44'26.0"S 79°56'58.4"W 8m
	M22	-6.740548, -79.949542 6°44'26.0"S 79°56'58.4"W 8m
	M23	-6.740548, -79.949542 6°44'26.0"S 79°56'58.4"W 8m
	M24	-6.740548, -79.949542 6°44'26.0"S 79°56'58.4"W 8m
	M25	-6.741667, -79.951667 6°44'30.0"S 79°57'06.0"W 16m
	M26	-6.741667, -79.951667 6°44'30.0"S 79°57'06.0"W 16m
	M27	-6.741667, -79.951667 6°44'30.0"S 79°57'06.0"W 16m
	M28	-6.741667, -79.951667 6°44'30.0"S 79°57'06.0"W 16m
	M29	-6.741667, -79.951667 6°44'30.0"S 79°57'06.0"W 16m
	M30	-6.741667, -79.951667 6°44'30.0"S 79°57'06.0"W 16m
	M31	-6.741667, -79.951667 6°44'30.0"S 79°57'06.0"W 16m
	M32	-6.741667, -79.951667 6°44'30.0"S 79°57'06.0"W 16m
	M33	-6.741667, -79.951667 6°44'30.0"S 79°57'06.0"W 16m
Distrito de Oyotún, Chiclayo	M34	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M35	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M36	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M37	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M38	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M39	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M40	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M41	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M42	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M43	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M44	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M45	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M46	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M47	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M48	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
	M49	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m
M50	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m	
M51	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m	
M52	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m	
M53	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m	
M54	-6.845071, -79.301195 6°50'42.3"S 79°18'04.3"W 233m	

3.2.5 Identificación de la actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio en las bacterias aisladas de la rizósfera de *Aloe vera* (L.) Burm. f.

Las raíces con el suelo rizosférico adherido se deshidrataron bajo sombra durante 72 horas y el suelo rizosférico fue obtenido golpeando las raíces suavemente contra la mano (Vardharajula et al., 2011). A continuación, se pesó 10g de suelo rizosférico, se depositó en 90mL de solución salina esterilizada, NaCl 0,85%, p/v y se agitó manualmente durante 10 minutos, obteniendo una suspensión del suelo. Para el aislamiento de *Bacillus* spp. 1mL de la suspensión de suelo fue llevado a tratamiento térmico, a 80°C (Figura 8), por 10 minutos y se enfrió rápidamente con agua de caño (Avalos et al., 2016).

Para el aislamiento de las bacterias rizosféricas se tomó una alícuota de la suspensión de suelo rizosférico, se sembró mediante la técnica de estría por agotamiento sobre la superficie de agar Plate Count y MacConkey (Anexo B) y para *Bacillus* spp. en agar Plate Count. Los medios de cultivo se suplementaron con 0,85M NaCl (~ 52) y 100mgL⁻¹ de nistatina (Szymanska et al., 2016). Las placas de Petri se incubaron en aerobiosis a 30°C hasta por 120 horas. Las colonias de las bacterias aisladas se agruparon según sus características morfológicas, se realizaron tinciones de Gram, se seleccionó una representativa de cada morfotipo, se cultivaron en agar tripticasa soya (ATS) y constituyeron los cultivos puros de bacterias que se guardaron en refrigeración (8°C).

La actividad ACC desaminasa se determinó de forma cualitativa por la utilización del ACC como fuente de nitrógeno (Penrose y Glick, 2003) en el medio mínimo Dworkin & Foster (DF) con 0.85M NaCl y 3 mM de una solución 0,5 M de ACC como fuente de nitrógeno. Las rizobacterias se cultivaron en 5mL del medio DF con 3mM de ACC como medio selectivo y en 5mL de medio DF con 2gL⁻¹ de sulfato de amonio como control positivo (Anexo B). Después de 48 horas de incubación a 30°C, con agitación manual diaria por 5 minutos se determinó la absorbancia en el espectrofotómetro de luz visible Q-nm (Model Tenso Med NV-203) a 405nm.

Figura 8

Tratamiento térmico del suelo rizosférico de Aloe vera (L) Burm. f., Lambayeque 2019.



Las bacterias con actividad ACC desaminasa, que utilizaron el ACC como fuente de nitrógeno fueron aquellas cuya absorbancia en el medio DF con ACC fue similar o mayor a la de control positivo (Azadikhah et al., 2019). A estas bacterias se les investigó la tolerancia a 7,5 y 10% NaCl, p/v (Zhang et al., 2019). Las bacterias se cultivaron en caldo nutritivo (Anexo B) suplementando con 0; 7,5 y 10% NaCl (p/v) a 30°C, durante 48 horas y la turbidez por el desarrollo, similar en el caldo sin y con NaCl evidenció la tolerancia a la salinidad.

3.2.6 Identificación fenotípica del género de las rizobacterias

La identificación fenotípica del género de las rizobacterias con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio consistió en determinar las características macroscópicas de las colonias (tamaño, color, borde, textura) y las características microscópicas de las células (reacción a la coloración de Gram y posición de las esporas). Asimismo, según el “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology” (Holt et al, 1994), se realizaron las pruebas de catalasa, oxidasa, motilidad, producción de acidez a partir de la glucosa, producción de acetoína, hidrólisis de la gelatina y almidón, utilización del citrato como fuente de carbono y energía, reducción de nitratos a nitritos, crecimiento en 7% de NaCl, a 45 y 55°C.

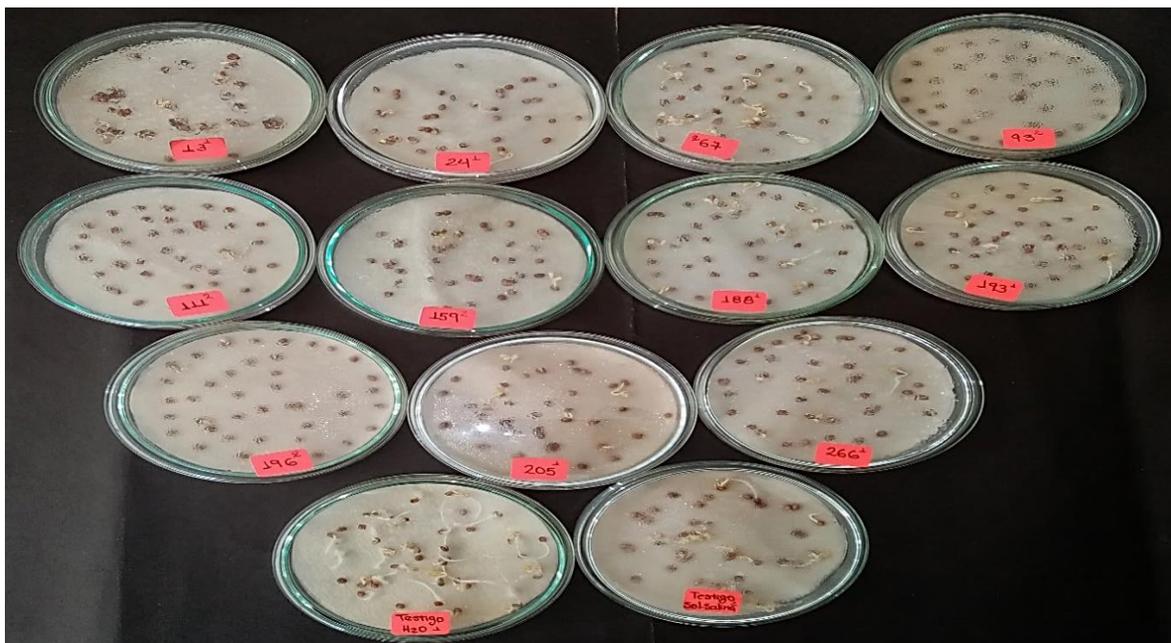
3.2.7 Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación de semillas

***R. sativus* L. bajo estrés salino**

En el ensayo se utilizaron semillas de *R. sativus* L. “rabanito” variedad Champion con 98% de germinación previamente determinada por 7 días en placas de Petri (Figura 9) sobre papel filtro humedecido con agua destilada (Contreras y Carreño, 2018). Las bacterias se cultivaron por dos veces consecutivas en 5mL de medio mínimo DF con 0,85M NaCl (~5%) y 3mM de ACC, con agitación manual diaria por 5 minutos a las 6, 12, 18 y 24 horas. Para la obtención del inóculo, la biomasa bacteriana se concentró por centrifugación, se lavó tres veces consecutivas con una solución 0,03M de MgSO₄ y su concentración se estandarizó por turbidimetría (Ramírez, 2015), con la misma solución a $1,5 \times 10^8$ cel mL⁻¹ (tubo N° 0,5 del nefelómetro de Mc Farland).

Figura 9

Prueba de germinación de semillas de Raphanus sativus inoculadas con bacterias rizosféricas bajo estrés salino, Lambayeque 2019.



Los tratamientos fueron once rizobacterias, un testigo con solución salina (CE= 6,94dSm⁻¹) y un testigo con agua destilada (CE= 0). En el ensayo se acondicionaron 39 placas de Petri con tres capas de papel de filtro humedecido con una solución de 80 mM NaCl (CE= 6,94dSm⁻¹) y tres placas con agua destilada (CE = 0). Las semillas de rabanito se desinfectaron en una solución 1% de hipoclorito de sodio comercial (NaClO) durante 5 minutos, se enjuagaron cinco veces consecutivas en agua destilada (Tolba et al., 2014), se inocularon por inmersión en 1 mL de la suspensión bacteriana a 28°C por 10 horas. (Quin et al., 2012) y se depositaron por triplicado en las placas de Petri correspondientes (40 semillas por placa).

Las placas de Petri con las semillas de rabanito se cubrieron con papel aluminio, se registró el número de semillas germinadas (porcentaje de germinación) y las plántulas con dos hojas o más se retiraron para facilitar el conteo durante 12 días (Qin et al., 2014). La tasa de germinación o suma de las semillas germinadas se determinó cada 3 días, considerando las radículas emergidas con 2 o más mm de longitud (Rueda et al., 2009). La tasa de germinación se calculó según la ecuación propuesta por Marguire y utilizada por Rueda et al. (2009): $M = n_1/t_1 + n_2/t_2 + \dots n_{12}/t_{12}$, donde $n_1, n_2, \dots n_{12}$ representa el número de semillas germinadas en el tiempo $t_1, t_2 \dots t_{12}$ (días).

3.2.8 Efecto de bacterias rizosféricas en el desarrollo de *Raphanus sativus* L. sin y con estrés salino

En dos ensayos independientes, en suelos no salino y salino se determinó el efecto de cuatro bacterias rizosféricas en la emergencia y desarrollo de *R. sativus*, bajo un diseño completamente aleatorio con cinco tratamientos: testigo sin bacterias (T₁) y cuatro tratamientos con bacterias (T₂ a T₅), tres repeticiones por tratamiento y 15 unidades experimentales por ensayo.

El suelo utilizado en los ensayos se colectó en el distrito de Mochumí: 80kg de suelo no salino (CE=3,17dSm⁻¹) en el caserío Punto 4 y en el distrito de San José: 80kg de suelo salino (CE=10,12dSm⁻¹) en el caserío la Tiza. El contenido de sales del suelo (conductibilidad eléctrica, CE), así como la clase textural, pH,

materia orgánica, fósforo, potasio, carbonato de calcio, cationes y la capacidad de intercambio iónico (CIC) se determinaron en el Laboratorio Agrícola Análisis de Suelos y Agua, CYSAG (Tablas 2, 3, anexo C).

Las bacterias se cultivaron en caldo tripticasa soya con 0,85M NaCl, a 30°C, con agitación manual diaria cada 6 horas durante 24 horas. Los caldos se centrifugaron (3000 rpm) durante 5 minutos, la biomasa se cultivó en 5mL en medio mínimo DF con 0,85M NaCl y en 3mM de ACC y se incubó a 30°C, durante 24 horas. La biomasa se concentró por centrifugación, se lavó con una solución 0,03M de MgSO₄, se resuspendió en la misma solución y la concentración se estandarizó a $1,5 \times 10^8$ cel mL⁻¹ por turbidimetría con el nefelómetro de McFarland (Ramírez, 2015).

Las semillas de rabanito se inocularon por inmersión durante 3 horas en 7,5mL del inóculo bacteriano correspondiente y en el testigo las semillas fueron sumergidas en agua destilada (7,5mL). Las semillas inoculadas (cuatro por maceta) se sembraron en dos surcos a un 1cm de distancia entre semillas y 2cm de profundidad. Las macetas con el suelo experimental se mantuvieron en el invernadero (Figura 10) y se realizaron los riegos requeridos con agua previamente dechlorada (24 horas). La inoculación de las bacterias rizosféricas y el cultivo de rabanito se realizó durante el 1 al 30 de agosto de 2020.

Tabla 2

Análisis físico químico de suelo no salino procedente Mochumí en Lambayeque, 2020

Clase textural	pH	CE (d Sm⁻¹)	MO (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	CaCO₃ (%)	CIC (meq/100g)
Fr. Ao	7,01	3,17	3,75	57	207	3,80	10,80

Tabla 3

Análisis físico químico de suelo salino procedente de San José en Lambayeque, 2020

Clase textural	pH	CE (d Sm⁻¹)	MO (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	CaCO₃ (%)	CIC (meq/100g)
Fr. Ao.	7,34	10,12	3,18	40	107	2,10	17,29

Figura 10

Macetas acondicionadas con el suelo experimental, Lambayeque 2019.



Las temperaturas máxima (30°C), mínima (22 °C) y media (27°C) fueron registradas por la estación meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo en Lambayeque. Transcurridos 10 días después de la siembra se contaron las plántulas emergidas y cada 5 días (15, 20, 25, 30 días) se midió la altura de las plantas (Figura 11). A los 30 días se determinó el número de hojas y el peso de las raíces y la biomasa aérea (Figura 12) y con los valores registrados se calcularon los índices de efectividad (IE) en porcentaje (García et al., 2010):

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

En las hojas de las plantas de los dos tratamientos con los mayores índices de efectividad en el peso de las raíces se determinó el contenido relativo de clorofila utilizando un clorofilómetro (Minoltan Spad 502 plus).

3.2.9 Análisis estadístico de los datos

Los valores de la altura, número de hojas y peso de la biomasa aérea y radicular fueron analizados con las pruebas de normalidad (Shapiro - Wilk) y homogeneidad de varianzas (Barlett). A continuación, se determinaron las diferencias entre los tratamientos (análisis de varianza) y la significancia entre ellos mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Hernández et al., 2014). Se utilizaron los programas Microsoft Office Word y Excel versión 2016.

Figura 11

*Medición de la altura de *Raphanus sativus* L., Lambayeque 2019.*

**Figura 12**

*Pesaje de la biomasa aérea de *Raphanus sativus* L.*



IV. RESULTADOS

4.1 Actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio en las bacterias rizosféricas de *Aloe vera* (L.) Burm. f. en Lambayeque, 2019

En todas las muestras de suelo rizosférico de sábila se aislaron bacterias y se diferenciaron 12 morfotipos en agar Plate Count y 4 en agar MacConkey (Tablas 4, 5). Se obtuvieron 279 cultivos puros de bacterias con rangos de 1-10 por muestra de suelo rizosférico en agar Plate Count y 1-3 cultivos por muestra en agar MacConkey. En el mayor número de muestras de suelo rizosférico se obtuvieron tres cultivos bacterianos en agar Plate Count y un cultivo bacteriano en agar MacConkey (Tablas 6,7). Las bacterias rizosféricas de sábila fueron Gram positivas (80,65%) y Gram negativas (19,35%) con predominio (75,63%) de bacilos Gram positivos (Tabla 8, figuras 13 a 23, anexo D a F).

La actividad ACC desaminasa se demostró en el 3,94% de las bacterias rizosféricas de sábila. El desarrollo de estas bacterias presentó igual absorbancia en los medios con ACC y sulfato de amonio como fuentes de nitrógeno o mayor absorbancia en el medio con ACC (Tabla 9, figuras 24,25, anexo G). estas bacterias demostraron tolerancia a 7,5 y 10% NaCl (p/v), evidenciada por la turbidez similar, observada en los caldos con y sin cloruro de sodio.

4.2 Identificación fenotípica del género de las rizobacterias en Lambayeque, 2019

Las rizobacterias con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio aisladas de *A. vera* se identificaron en el género *Bacillus* (Tabla 10).

Tabla 4

Frecuencia de morfotipos de bacterias rizosféricas, según características de la colonia en agar Plate Count, Lambayeque 2019

Morfotipo	Colonia					Frecuencia	
	Forma	Borde	Aspecto	Elevación	Transparencia/ coloración	N°	%
1	Irregular	Ondulado	Pastosa	Plana	Opaca	56	24,89
2	Circular	Entero	Creмоса	Convexa	Opaca	43	19,11
3	Circular	Entero	Mucosa	Convexa	Opaca	25	11,11
4	Irregular	Ondulado	Seca	Plana	Translúcida	24	10,67
5	Irregular	Lobulado	Seca	Plana	Opaca	22	9,78
6	Irregular	Ondulado	Muy seca	Papilada	Opaca	17	7,56
7	Irregular	Ondulado	Creмоса	Convexa	Amarilla	10	4,44
8	Circular	Entero	Mucosa	Umbilicada	Blanca	9	4,00
9	Irregular	Ondulado	Creмоса	Convexa	Rosada	9	4,00
10	Filamentosa	Filamentoso	Seco	Plana	Translúcida	4	1,78
11	Circular	Entero	Creмоса	Plana	Anaranjada	3	1,33
12	Fusiforme	Ondulado	Pastosa	Plana	Opaca	3	1,33
Total						225	100

Tabla 5

Frecuencia de morfotipos de bacterias rizosféricas, según características de la colonia en agar MacConkey, Lambayeque 2019

Morfotipo	Colonia						Frecuencia	
	Forma	Borde	Aspecto	Elevación	Transparencia/ coloración	Fermentación de lactosa	N°	%
1	Circular	Entero	Mucosa	Convexa	Incolora	Negativo	21	38,89
2	Circular	Entero	Mucosa	Convexa	Grosella	Positivo	20	37,03
3	Irregular	Ondulado	Mucosa	Convexa	Rosada	Positivo	10	18,52
4	Irregular	Ondulado	Mucosa	Convexa	Incolora	Negativo	3	5,56
Total							54	100

Tabla 6

Número de morfotipos de colonias de bacterias en agar Plate Count aisladas de suelo rizosférico de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019

Muestras de suelo rizosférico (N°)	Cultivos de bacterias por muestra (N°)	Cultivos de bacterias (Total)
16	3	48
12	4	48
6	6	36
6	5	30
6	2	12
2	8	16
2	7	14
2	1	2
1	10	10
1	9	9
Total	54	225

Tabla 7

Número de morfotipos de colonias de bacterias en agar MacConkey aisladas de suelo rizosférico de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019

Muestras de suelo rizosférico (N°)	Cultivos de bacterias por muestra (N°)	Cultivos de bacterias (Total)
20	1	20
11	2	22
4	3	12
Total	35	54

Tabla 8

Frecuencia de bacterias según la forma y reacción a la tinción de Gram, aisladas de suelo rizosférico de Aloe vera (L) Burm. f. en dos medios de cultivo, Lambayeque 2019

Características diferenciales	Cultivos bacterianos			
	Plate count		MacConkey	
	N°	%	N°	%
Gram positivas	225	80,65	0	0
Gram negativas	0	0	54	19,35
Bacilos Gram positivos	211	75,63	0	0
Bacilos Gram negativos	0	0	27	9,68
Cocobacilos Gram positivos	7	2,51	0	0
Cocobacilos Gram negativos	0	0	27	9,68
Cocos Gram positivos	4	1,43	0	0
Filamentos Gram positivos	3	1,08	0	0

Figura 13

Observación microscópica (40x) de colonia irregular con borde ondulado y elevación papilada de bacteria rizosférica, de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.

**Figura 14**

Observación microscópica (40x) de colonia irregular con borde lobulado y elevación plana de bacteria rizosférica, de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.



Figura 15

Observación microscópica (40x) de colonia circular con borde entero y elevación convexa de bacteria rizosférica, de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.

**Figura 16**

Observación microscópica (40x) de colonia filamentosa con borde filamentosos y elevación plana de bacteria rizosférica, de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.



Figura 17

Observación microscópica (40x) de colonia circular con borde entero, color anaranjado y elevación plana de bacteria rizosférica, de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.

**Figura 18**

Observación microscópica (100x) de bacilos Gram positivos aisladas de la rizósfera de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.

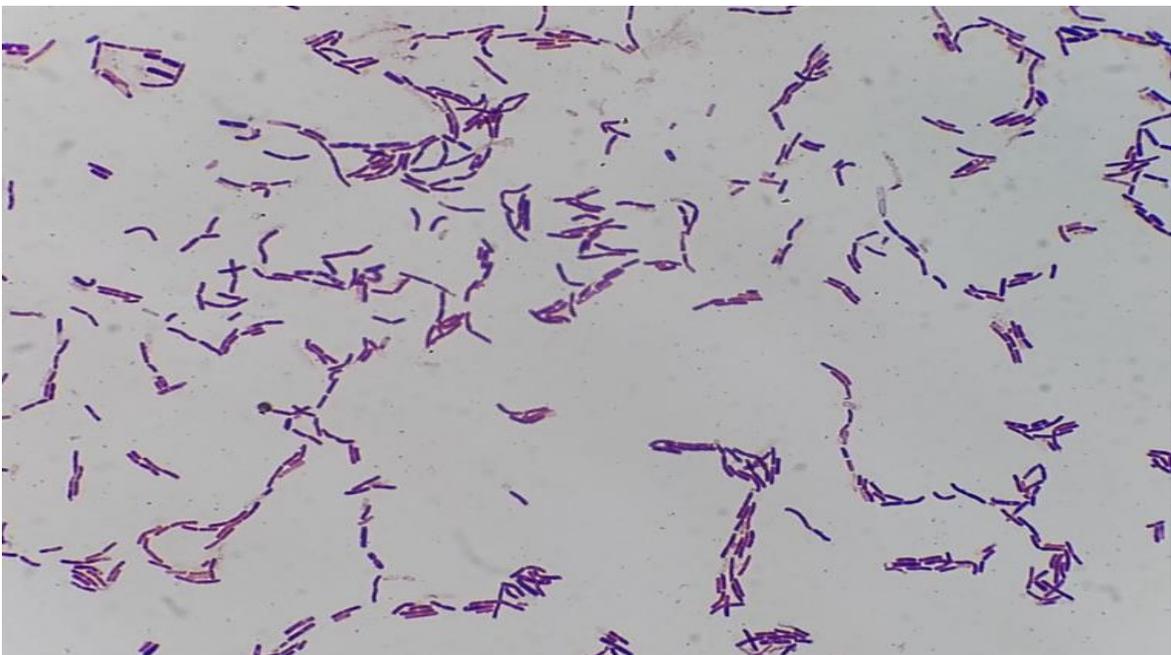
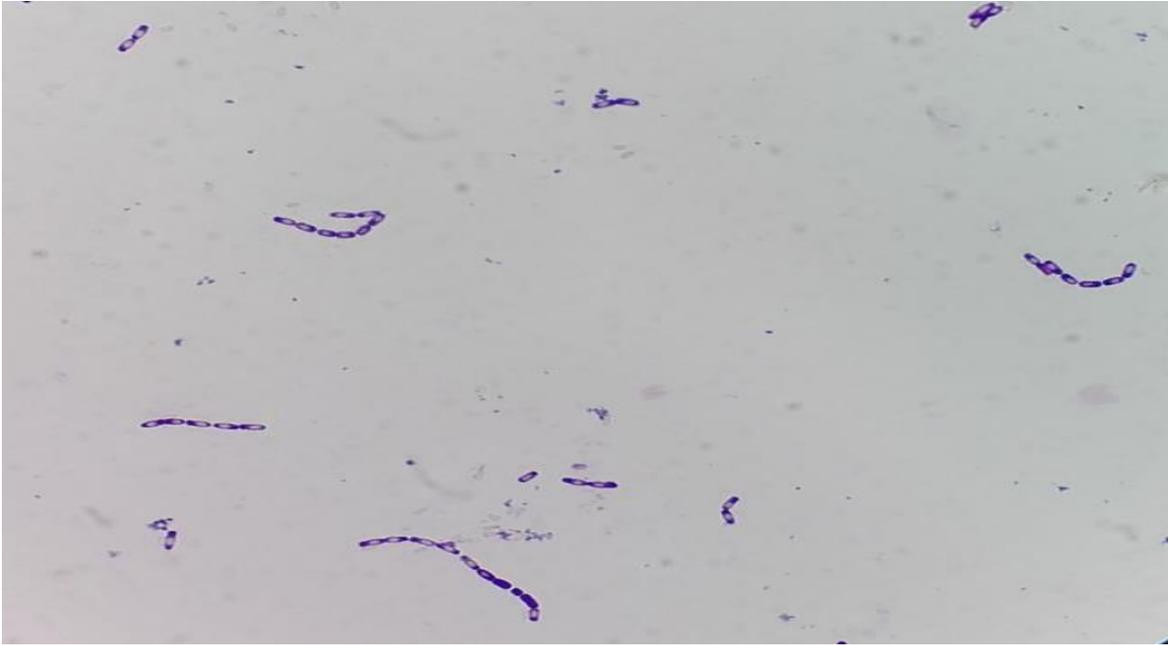


Figura 19

Observación microscópica (100x) de bacilos Gram positivos esporulados, aislados de la rizósfera de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.

**Figura 20**

Observación microscópica (100x) de cocobacilos Gram positivos, aislados de la rizósfera de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.

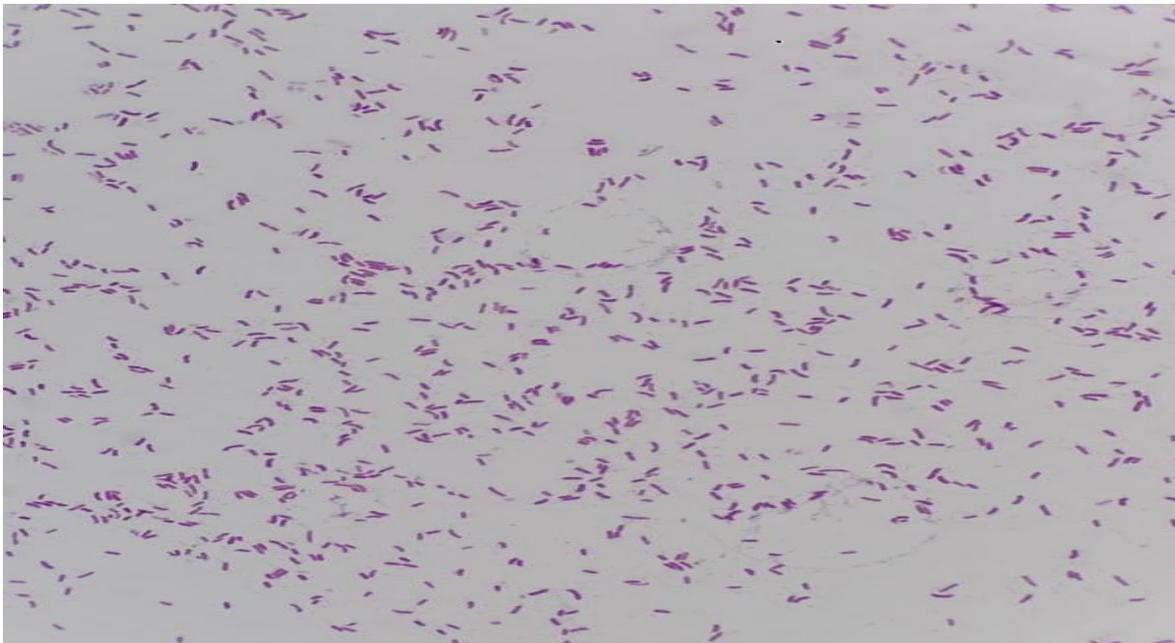
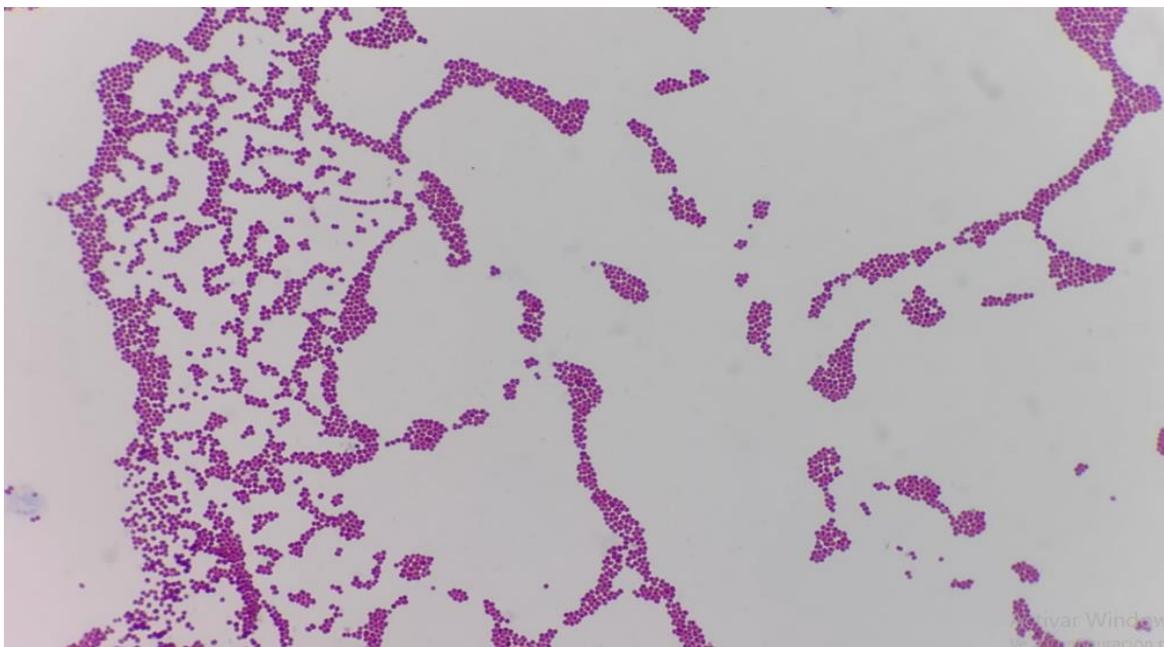


Figura 21

Observación microscópica (100x) de cocos Gram positivos, aislados de la rizósfera de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.

**Figura 22**

Observación microscópica (100x) de filamentos Gram positivos, aislados de la rizósfera de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.



Figura 23

Observación microscópica (100x) de bacilos Gram negativos, aislados de la rizósfera de Aloe vera (L.) Burm. f., Lambayeque 2019.

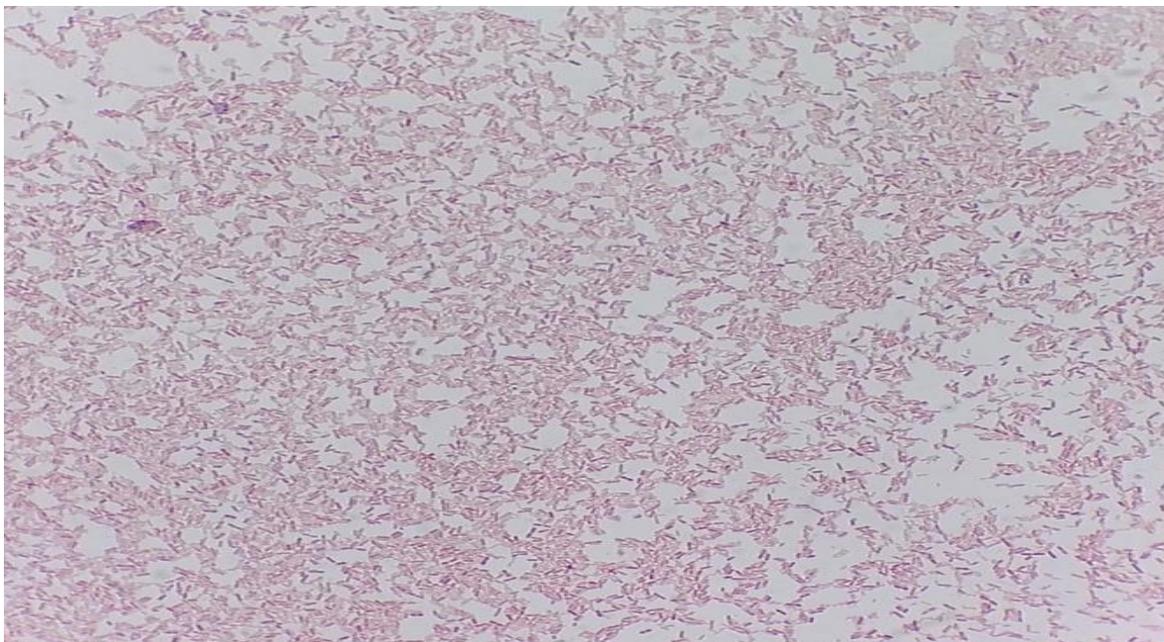


Tabla 9

Absorbancia (600nm) de medios mínimo Dworkin & Foster con ACC y sulfato de amonio como fuentes de nitrógeno cultivados con rizobacterias, Lambayeque 2019

Código de bacterias rizosféricas	ACC		Sulfato de amonio	
	Absorbancia	Absorbancia corregida	Absorbancia	Absorbancia corregida
Control	0,081	-	0,062	-
Bacteria 13-S	0,592	0,511	0,354	0,292
Bacteria 67-S	0,558	0,477	0,534	0,472
Bacteria 188-S	0,185	0,104	0,104	0,042
Bacteria 260-S	0,169	0,088	0,148	0,086

Figura 24

Bacterias rizosféricas de Aloe vera (L.) Burm. f. cultivadas en medio mínimo DF con ACC, Lambayeque 2019.

**Figura 25**

Bacterias rizosféricas Aloe vera (L.) Burm. f. cultivadas en medio mínimo DF con sulfato de amonio, Lambayeque 2019.



Tabla 10

Características diferenciales de rizobacterias aisladas de Aloe vera (L.) Burm.f., Lambayeque 2019

Características diferenciales	13-S	67-S	188-S	260-S
Tinción de Gram	+	+	+	+
Posición de la espora	Terminal	Central	Central	Central
Catalasa	+	+	+	+
Oxidasa	+	+	+	+
Motilidad	+	+	+	+
Producción de ácido a partir de glucosa (Prueba de Rojo de metilo)	+	-	+	+
Producción de acetoina (Prueba de Voges-Proskauer)	+	-	+	+
Hidrólisis de la gelatina	+	+	+	+
Hidrolisis del almidón	+	-	+	+
Utilización del citrato de sodio	+	+	+	+
Reducción de nitratos a nitritos	+	-	+	+
Crecimiento en 7% de NaCl	+	-	+	+
Crecimiento a 45 °C	+	-	+	+
Crecimiento a 55 °C	-	-	+	-

(+) reacción positiva, (-) reacción negativa

4.3 Efecto de bacterias rizosféricas con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio en la germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. bajo estrés salino

La inoculación de las bacterias rizosféricas con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio incrementó el porcentaje y la tasa de germinación de las semillas de rabanito bajo estrés salino en comparación con el testigo no inoculado. El porcentaje máximo de germinación fue de 39,17% a los 3 días (*Bacillus* 67-S); 60,0% a los 6 días (*Bacillus* 67-S) 69,17% a los 9 días (*Bacillus* 188-S) y 71,67% a los 12 días (*Bacillus* 188-S) en comparación con 31,67%; 46,67%; 50,83% y 54,17% respectivamente en el testigo solución salina (Tabla 11; figura 26).

La tasa máxima de germinación de las semillas de rabanito fue de 15,67 a los 3 días (*Bacillus* 67-S), 12,0 a los 6 días (*Bacillus* 188-S), 9,22 a los 9 días (*Bacillus* 188-S) y 7,17 a los 12 días (*Bacillus* 188-S) frente a 13,67; 9,33; 6,78 y 5,42 respecto con el testigo solución salina (Tabla 12).

En el testigo absoluto los porcentajes de germinación fueron de 52,50% (3 días), 81,67% (6 días), 89,17% (9 días), 91,67% (12 días), en comparación con el testigo NaCl en el que los valores fueron 31,67% (3 días); 46,67% (6 días); 50,83% (9 días) y 54,17% (12 días).

4.4 Comparación del efecto de cuatro bacterias rizosféricas en la emergencia y desarrollo de *Raphanus sativus* L. en suelo no salino y salino

Los valores de los parámetros del desarrollo de *R. sativus* L. “rabanito” se incrementaron por efecto de la inoculación de las bacterias rizosféricas del género *Bacillus*, en comparación con el testigo en los suelos salino y no salino. La salinidad (CE= 35,14 dSm⁻¹) disminuyó los valores de la emergencia y desarrollo de rabanito; no obstante, *Bacillus* spp. incrementaron los valores en comparación con el testigo no inoculado (Tabla 13).

Tabla 11

Porcentaje de germinación de semillas de Raphanus sativus L. bajo estrés salino por efecto de bacterias rizosféricas, Lambayeque 2019

Tratamientos	Porcentaje de germinación / días							
	3		6		9		12	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Testigo absoluto	63	52,50	98	81,67	107	89,17	110	91,67
Testigo solución salina	38	31,67	56	46,67	61	50,83	65	54,17
<i>Bacillus</i> 188-S	29	24,16	60	50,00	83	69,17	86	71,67
<i>Bacillus</i> 67-S	47	39,17	72	60,00	76	63,33	78	65,00
<i>Bacillus</i> 260-S	19	15,83	32	26,67	43	35,83	44	36,67
<i>Bacillus</i> 13-S	22	18,33	30	25,00	32	26,67	33	27,50

* Promedio de tres repeticiones.

Figura 26

Germinación de semillas de Raphanus sativus L. bajo estrés salino: a) Testigo sin NaCl, b) Testigo con NaCl, c) Bacillus sp 188-S, d) Bacillus sp 67-S, Lambayeque 2019.

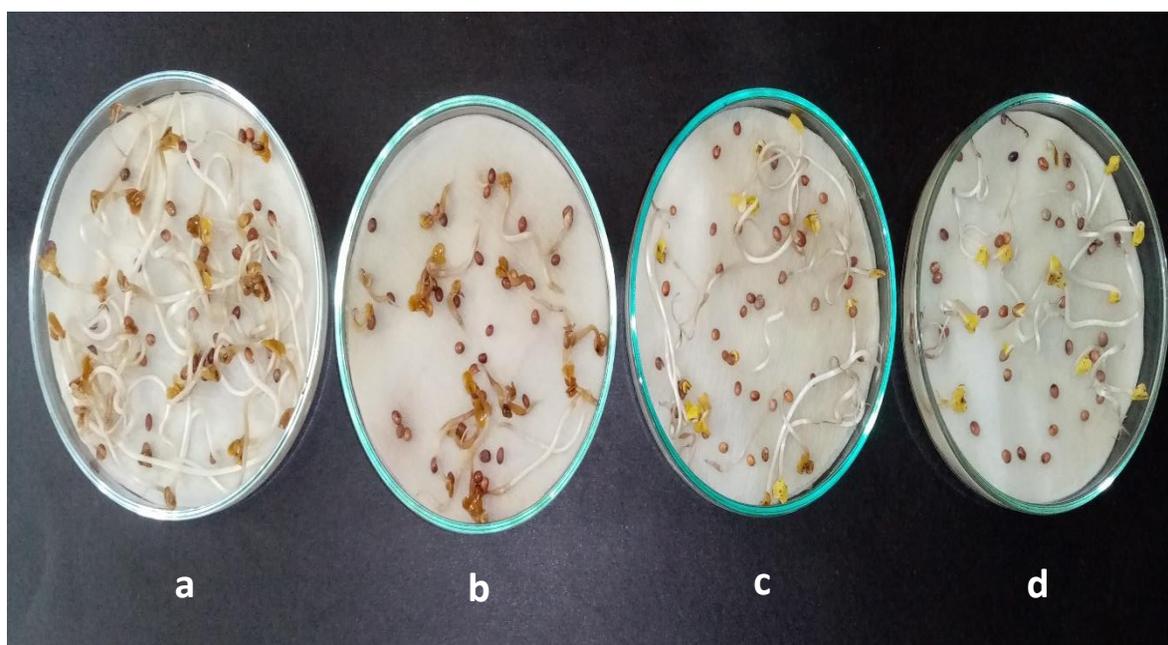


Tabla 12

Tasa de germinación de semillas de Raphanus sativus L. bajo estrés salino por efecto de rizobacterias en Lambayeque, 2019

Tratamientos	Tasa de germinación/días				Tasa de germinación
	3	6	9	12	
Testigo absoluto	21,00	16,33	11,89	9,17	58,39
<i>Bacillus</i> sp. 67-S	15,67	12,00	8,44	6,50	42,61
<i>Bacillus</i> sp.188-S	9,67	10,00	9,22	7,17	36,06
Testigo solución salina	13,67	9,33	6,78	5,42	35,20
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	6,33	5,33	4,78	3,67	20,11
<i>Bacillus</i> sp.13-S	7,33	5,00	3,56	2,75	18,64

Tabla 13

Rango de valores en la emergencia y desarrollo de Raphanus sativus L. inoculado con Bacillus spp. en suelos no salino y salino

Rango de valores en los parámetros del desarrollo	Suelo	
	No salino (CE= 3,17 dSm ⁻¹)	Salino (CE= 10,12 dSm ⁻¹)
Emergencia (%)		
Testigo	100,00	66,67
<i>Bacillus</i> spp.	100,00	83,33 – 91,75
Altura (cm)		
Testigo	6,08 – 17,08	2,17 – 9,20
<i>Bacillus</i> spp.	9,83 – 25,08	4,50 – 15,42
Número de hojas		
Testigo	6,67	4,40
<i>Bacillus</i> spp.	8,50 – 9,42	5,83 – 7,33
Peso de la biomasa aérea (g)		
Testigo	33,67	7,40
<i>Bacillus</i> spp.	45,58 – 56,25	7,50 – 11,42
Peso de raíces (g)		
Testigo	29,17	4,80
<i>Bacillus</i> spp.	32,08 – 39,00	3,08 – 9,50

4.4.1 Suelo no salino

La emergencia de las plantas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” en el suelo no salino (CE=5,22 dSm⁻¹), 10 días después de la inoculación de *Bacillus* spp., fue de 100% al igual que con el testigo. La altura de las plantas de rabanito se incrementó con la inoculación de *Bacillus* spp. respecto al testigo (Tablas 14, 15, figuras 27 a 30). Con *Bacillus* sp. 67-S se alcanzaron los mayores índices de efectividad de 82,19% a los 15 días; 73,64% a los 20 días; 65,52% a los 25 días y 46,83% a los 30 días (Tabla 16). El número de hojas, peso de la biomasa aérea y peso de raíces de las plantas de rabanito se incrementaron con la inoculación de *Bacillus* spp. respecto al testigo en el suelo no salino (Tablas 17, 18, figuras 31, 32), alcanzándose los mayores índices de efectividad de 41,25% (número de hojas), 67,08% (biomasa aérea) y 33,71% (peso raíces) con *Bacillus* sp. 260-S.

El análisis de varianza de los valores promedios evidenció alta significancia en la altura (15, 20, 25, 30 días), número de hojas, peso de la biomasa aérea y peso de raíces (Anexo H). La prueba de comparaciones múltiples de Tukey demostró que los mayores valores en la altura y número de hojas se alcanzaron en los tratamientos con *Bacillus* spp., con diferencias significativas frente al testigo (Tablas 19, 20). En cuanto a la biomasa aérea los mayores valores correspondieron a las plantas inoculadas con *Bacillus* spp. 67 y 260 y respecto al peso de raíces el mayor valor se alcanzó con *Bacillus* sp. 260, en ambos casos con diferencias significativas frente al testigo (Tabla 20).

Tabla 14

Emergencia de plántulas de Raphanus sativus L. por efecto de Bacillus spp. en suelo no salino

Tratamientos	3		6		9	
	N	%	N	%	N	%
Testigo	1,67 ± 0,51	41,75	2,33 ± 0,51	58,25	4,00	100,00
<i>Bacillus</i> sp. 13-S	1,67 ± 0,51	41,75	2,66 ± 0,49	66,50	4,00	100,00
<i>Bacillus</i> sp. 67-S	2,00 ± 0,52	50,00	3,33 ± 0,39	83,25	4,00	100,00
<i>Bacillus</i> sp. 188-S	1,67 ± 0,51	41,75	2,66 ± 0,49	66,50	4,00	100,00
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	2,00 ± 0,52	50,00	3,00 ± 0,45	75,00	4,00	100,00

*Promedio de tres repeticiones.

Tabla 15

Altura de plantas de Raphanus sativus L. en suelo no salino por efecto de Bacillus spp.

Tratamientos	Altura (cm/días) *			
	15	20	25	30
Testigo	6,08 ± 1,62	9,17 ± 0,83	12,08 ± 1,38	17,08 ± 1,83
<i>Bacillus</i> sp. 13-S	10,08 ± 1,51	12,92 ± 2,07	17,08 ± 2,07	22,58 ± 2,57
<i>Bacillus</i> sp. 67-S	11,08 ± 0,90	15,92 ± 1,62	20,00 ± 1,86	25,08 ± 1,56
<i>Bacillus</i> sp. 188-S	10,00 ± 1,28	14,25 ± 2,14	19,83 ± 2,86	24,67 ± 1,07
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	9,83 ± 1,27	14,00 ± 1,21	19,08 ± 0,67	23,75 ± 1,14

*Promedio de doce mediciones.

Figura 27

Plantas de Raphanus sativus L., 10 días después de la inoculación con bacterias rizosféricas del género Bacillus en suelo no salino.

**Figura 28**

Plantas de Raphanus sativus L., 15 días después de la inoculación de Bacillus sp 67-S en suelo no salino.



Figura 29

Plantas de Raphanus sativus L., 25 días después de la inoculación de Bacillus sp 67-S en suelo no salino.

**Figura 30**

Plantas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp 67-S en suelo no salino.



Tabla 16

Índices de efectividad de Bacillus spp. en la altura de Raphanus sativus L. en suelo no salino

Tratamientos	IE* (%) /días			
	15	20	25	30
<i>Bacillus</i> sp. 13-S	65,75	40,91	41,38	32,20
<i>Bacillus</i> sp. 67-S	82,19	73,64	65,52	46,83
<i>Bacillus</i> sp. 188-S	64,38	55,45	64,14	44,39
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	61,64	52,73	57,93	39,02

*Promedio de doce mediciones

Tabla 17

Índices de efectividad de Bacillus spp. en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de Raphanus sativus L. en suelo no salino

Tratamientos	Hojas*		Biomasa aérea*	
	N°	IE (%)	g	IE (%)
Testigo	6,67 ± 0,65	-	33,67 ± 2,93	-
<i>Bacillus</i> sp. 13-S	8,50 ± 1,17	27,50	46,42 ± 2,07	37,87
<i>Bacillus</i> sp. 67-S	8,83 ± 1,27	32,50	53,08 ± 2,19	57,67
<i>Bacillus</i> sp. 188-S	8,50 ± 1,17	27,50	45,58 ± 1,88	35,40
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	9,42 ± 0,79	41,25	56,25 ± 1,91	67,08

*Promedio de doce mediciones

Tabla 18

Índices de efectividad de Bacillus spp. en el peso de raíces de Raphanus sativus L. en suelo no salino

Tratamientos	Peso (g)	IE (%)
Testigo	29,17 ± 1,40	-
<i>Bacillus</i> sp. 13-S	32,08 ± 2,60	10,00
<i>Bacillus</i> sp. 67-S	34,75 ± 2,09	19,14
<i>Bacillus</i> sp. 188-S	33,42 ± 1,78	14,57
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	39,00 ± 2,98	33,71

*Promedio de doce mediciones

Figura 31

Biomasa aérea de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp 67-S en suelo no salino.

**Figura 32**

Raíces de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp 67-S en suelo no salino.



Tabla 19

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios de altura de Raphanus sativus L., a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. en suelo no salino

Tratamientos	Altura (cm)		Altura (cm)		Altura (cm)		Altura (cm)	
	15 días	Sign.	20 días	Sign.	25 días	Sign.	30 días	Sign.
Testigo	6,08	b	9,17	c	12,08	b	17,08	c
<i>Bacillus sp.</i> 13-S	10,08	a	12,92	b	17,08	a	22,58	b
<i>Bacillus sp.</i> 67-S	11,08	a	15,92	a	20,00	a	25,08	a
<i>Bacillus sp.</i> 188-S	10,00	a	14,25	a b	19,83	a	24,67	a b
<i>Bacillus sp.</i> 260-S	9,83	a	14,00	a b	19,08	a	23,83	a b

Tabla 20

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios del número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. en suelo no salino

Tratamientos	Número de hojas		Biomasa aérea		Peso de raíces	
	(N°)	Sign.	(g)	Sign.	(g)	Sign.
Testigo	6,67	b	33,67	c	29,17	c
<i>Bacillus sp.</i> 13-S	8,50	a	46,42	b	32,08	b c
<i>Bacillus sp.</i> 67-S	8,83	a	53,08	a	34,75	b
<i>Bacillus sp.</i> 188-S	8,50	a	45,58	b	33,42	b
<i>Bacillus sp.</i> 260-S	9,42	a	56,25	a	39,00	a

4.4.2 Suelo salino

La emergencia de las plantas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” en el suelo salino ($CE=35,14 \text{ dSm}^{-1}$), 10 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. fue de 91,75% y en el testigo fue de 66,75% (Tabla 21). La altura de las plantas de rabanito se incrementó con la inoculación de *Bacillus* spp. respecto al testigo (Tabla 22, figuras 33 a 36). Con *Bacillus* sp. 260-S se alcanzaron los mayores índices de efectividad de 203,85% a los 15 días; 93,18% a los 20 días; 83,33% a los 25 días y 67,57% a los 30 días (Tabla 23).

El número de hojas, peso de la biomasa aérea y peso de raíces de las plantas de rabanito se incrementaron con la inoculación de *Bacillus* spp. respecto al testigo en el suelo salino (Tablas 24, 25, figuras 37, 38). Con *Bacillus* sp. 260-S se alcanzaron los mayores índices de efectividad de 66,67% (número de hojas); 54,28% en la biomasa aérea y 172,57% en el peso de las raíces.

El análisis de varianza de los valores promedios evidenció alta significancia en la altura (15, 20, 25, 30 días), número de hojas, peso de la biomasa aérea y peso de raíces (Anexo I). La prueba de comparaciones múltiples de Tukey demostró que los mayores valores en la altura y número de hojas se alcanzaron en los tratamientos con *Bacillus* spp., con diferencias significativas frente al testigo (Tablas 26, 27). En cuanto a la biomasa aérea y peso de raíces los mayores valores correspondieron a las plantas inoculadas con *Bacillus* sp. 260-S, con diferencias significativas frente al testigo (Tabla 27).

El contenido de clorofila en las hojas de rabanito se incrementó 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp., en comparación con el testigo, alcanzando índices de efectividad de 13,51% (*Bacillus* sp. 188-S) y 28,46% (*Bacillus* sp. 260-S). El análisis de varianza del contenido de clorofila (Anexo I) evidenció alta significancia y la prueba de comparaciones múltiples demostró que el mayor valor se alcanzó con *Bacillus* sp. 260-S, con diferencias significativas frente a *Bacillus* sp. 188-S, el cual a su vez se diferenció estadísticamente del testigo (Tabla 28, anexo I).

Tabla 21

Emergencia de plántulas de Raphanus sativus L. por efecto de Bacillus spp. en suelo salino

Tratamientos	3		6		9	
	N	%	N	%	N	%
Testigo	1,00 ± 0,45	25,00	1,67 ± 0,51	41,75	2,67 ± 0,49	66,75
<i>Bacillus</i> sp. 13-S	1,67 ± 0,51	41,75	2,33 ± 0,51	58,25	3,67 ± 0,29	91,75
<i>Bacillus</i> sp. 67-S	1,33 ± 0,49	33,25	2,33 ± 0,51	58,25	3,33 ± 0,39	83,25
<i>Bacillus</i> sp. 188-S	1,00 ± 0,45	25,00	2,00 ± 0,52	50,00	3,33 ± 0,39	83,25
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	1,67 ± 0,51	41,75	2,67 ± 0,49	66,75	3,67 ± 0,29	91,75

*Promedio de tres repeticiones.

Tabla 22

Altura de plantas de Raphanus sativus L. en suelo salino por efecto Bacillus spp.

Tratamientos	Altura (cm/días) *			
	15	20	25	30
Testigo	2,17 ± 0,71	4,40 ± 1,07	7,00 ± 0,83	9,20 ± 0,99
<i>Bacillus</i> sp. 13-S	6,17 ± 2,17	8,42 ± 1,14	12,08 ± 1,94	15,08 ± 1,75
<i>Bacillus</i> sp. 67-S	4,50 ± 1,35	6,58 ± 1,29	10,50 ± 1,17	14,33 ± 1,40
<i>Bacillus</i> sp. 188-S	5,75 ± 1,29	7,42 ± 1,08	11,08 ± 1,77	14,33 ± 1,32
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	6,58 ± 1,25	8,50 ± 1,19	12,83 ± 1,18	15,42 ± 1,54

*Promedio de doce mediciones

Tabla 23

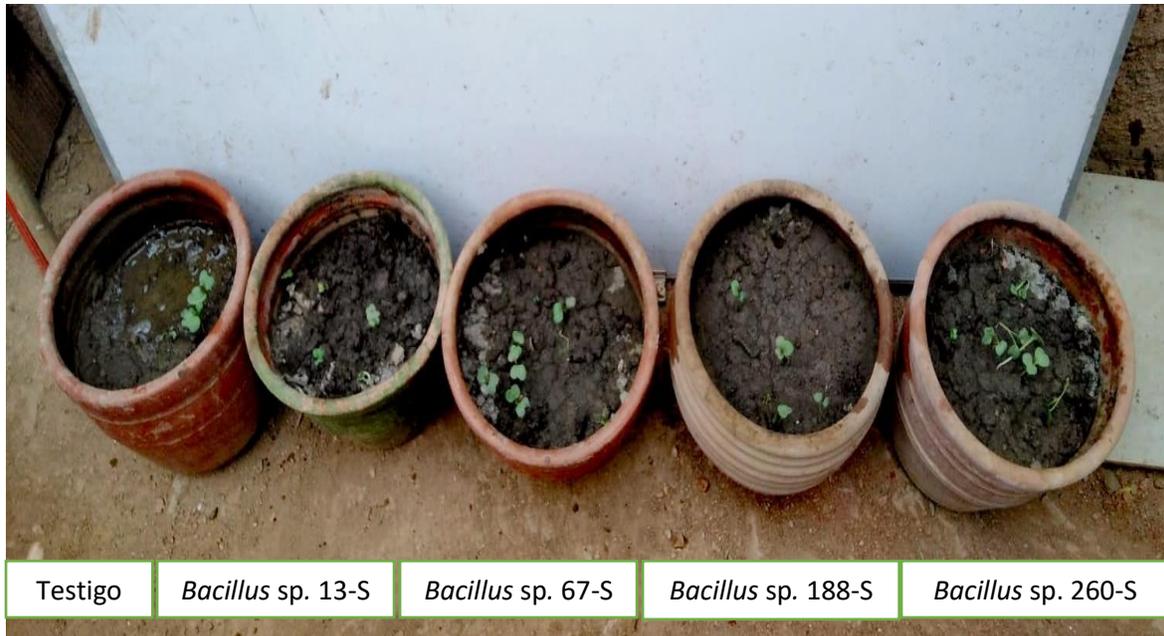
Índices de efectividad de Bacillus spp. en la altura de Raphanus sativus L. en suelo salino

Tratamientos	IE* (%) /días			
	15	20	25	30
<i>Bacillus</i> sp. 13-S	184,62	91,29	72,62	63,95
<i>Bacillus</i> sp. 67-S	107,69	49,62	50,00	55,80
<i>Bacillus</i> sp. 188-S	165,38	68,56	58,33	55,80
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	203,85	93,18	83,33	67,57

*Promedio de doce mediciones

Figura 33

Plantas de Raphanus sativus L., 10 días después de la inoculación con bacterias rizosféricas del género Bacillus en suelo salino.

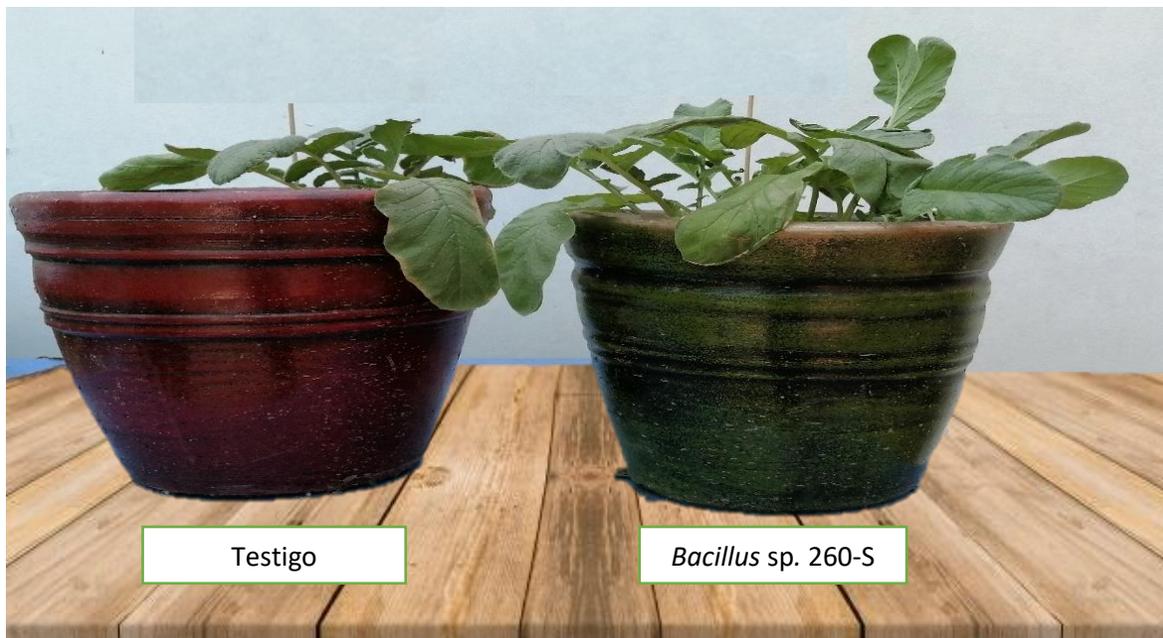
**Figura 34**

Plantas de Raphanus sativus L., 15 días después de la inoculación de Bacillus sp. 260-S en suelo salino.



Figura 35

Plantas de Raphanus sativus L., 25 días después de la inoculación de Bacillus sp. 260-S en suelo salino

**Figura 36**

Plantas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp. 260-S en suelo salino.



Tabla 24

Índices de efectividad de Bacillus spp. en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de Raphanus sativus L. en suelo salino

Tratamientos	Hojas*		Biomasa aérea*	
	N°	IE (%)	g	IE (%)
Testigo	4,40 ± 0,52	-	7,40 ± 1,42	-
<i>Bacillus</i> sp. 13-S	6,50 ± 1,48	47,73	8,00 ± 0,62	8,11
<i>Bacillus</i> sp. 67-S	6,33 ± 1,29	43,94	7,50 ± 0,63	1,35
<i>Bacillus</i> sp. 188-S	5,83 ± 0,94	32,58	10,92 ± 1,79	47,52
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	7,33 ± 0,89	66,67	11,42 ± 1,37	54,28

*Promedio de doce mediciones

Tabla 25

Índices de efectividad de Bacillus spp. en el peso de raíces de Raphanus sativus L. en suelo salino

Tratamientos	Peso (g)	IE (%)
Testigo	4,80 ± 1,77	-
<i>Bacillus</i> sp. 13-S	6,25 ± 1,94	30,21
<i>Bacillus</i> sp. 67-S	7,50 ± 1,94	56,25
<i>Bacillus</i> sp. 188-S	9,50 ± 2,16	97,92
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	3,08 ± 1,72	172,57

*Promedio de doce mediciones

Figura 37

Biomasa aérea de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp. 260-S en suelo salino.

**Figura 38**

Raíces de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp. 260-S en suelo salino.



Tabla 26

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios de altura de Raphanus sativus L. a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. en un suelo salino

Tratamientos	Altura (cm)		Altura (cm)		Altura (cm)		Altura (cm)	
	15 días	Sign.	20 días	Sign.	25 días	Sign.	30 días	Sign.
Testigo	2,17	b	4,00	b	6,08	b	7,92	b
<i>Bacillus sp.</i> 13-S	6,17	a	8,42	a	12,08	a	15,08	a b
<i>Bacillus sp.</i> 67-S	4,50	a b	6,58	a b	10,50	a b	14,33	a b
<i>Bacillus sp.</i> 188-S	5,75	a	7,42	a b	11,08	a b	14,33	a b
<i>Bacillus sp.</i> 260-S	6,58	a	8,50	a	14,33	a	17,25	a

Tabla 27

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los promedios del número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. en un suelo salino

Tratamientos	Número de hojas		Biomasa aérea		Peso de raíces	
	(N°)	Sign.	(g)	Sign.	(g)	Sign.
Testigo	3,58	a	6,25	b	3,67	c
<i>Bacillus sp.</i> 13-S	6,50	a	8,00	a b	6,25	b c
<i>Bacillus sp.</i> 67-S	6,33	a	7,50	a b	7,50	a b c
<i>Bacillus sp.</i> 188-S	5,83	a	10,92	a b	9,50	a b
<i>Bacillus sp.</i> 260-S	7,33	a	11,42	a	13,08	a

Tabla 28

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey del contenido de clorofila (SPAD) en las hojas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. en un suelo salino

Clorofila (SPAD)*					
Tratamientos	r1	r2	r3	\bar{X}	Sign.
Testigo	29,28	31,75	28,40	29,98	c
<i>Bacillus</i> sp. 188-S	34,75	34,10	33,20	34,02	b
<i>Bacillus</i> sp. 260-S	38,00	38,35	39,15	38,50	a

*Promedio de dos mediciones

V. DISCUSIÓN

La sábila es una especie adaptada a la sequía, condición que se presenta por falta de humedad, altas temperaturas y elevada concentración de sales (Sifuentes et al., 2020). Al respecto, García et al. (2014) investigaron el crecimiento y contenido iónico de plantas de sábila en cultivos hidropónicos durante 75 días, bajo 0, 50, 100, 150, 200, 250 y 300 mol.m⁻¹ de NaCl. Las plantas sobrevivieron en salinidad; no obstante, conforme se incrementó la salinidad, disminuyeron el número de hojas, volumen foliar, biomasa y concentración de potasio. Por el contrario, se incrementó la concentración de sodio, cloruro y magnesio.

La rizósfera es el área del suelo influenciada por los exudados de la raíz (azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos), que constituyen nutrientes para una diversidad microbiana (Porto et al., 2017; Forni et al., 2016), por lo que es adecuada para el aislamiento de las bacterias benéficas para las plantas, denominadas rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal o PGPR, por sus siglas en inglés: Plant Growth Promoting Rizobacteria (Molina et al., 2015). Por su parte, Fenella y Joshi (2014) concluyeron que las plantas etnomedicinales como la sábila, constituyen un recurso potencial para la obtención de microorganismos novedosos y con aplicación biotecnológica.

Las PGPR predominantes en el suelo pertenecen a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* (Porto et al., 2017). El género *Bacillus* agrupa bacterias que forman esporas que les permiten sobrevivir en condiciones desfavorables, crecen en un amplio rango de temperatura y toleran la salinidad (Ehling et al., 2019; Verma et al., 2018). Asimismo, presentan características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal como son la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato (Acurio et al., 2020), producción de giberelinas, ácido abscísico (Min et al., 2017), citoquininas, ácido indol acético y presentan antagonismo a fitopatógenos (Da Silva et al., 2015).

El aislamiento de bacterias en la rizósfera de las plantas de sábila coincide con Meena y Baljeet (2017), quienes identificaron el bacilo Gram positivo *Brevibacterium frigitolerans*. En esta bacteria no se investigó la actividad de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa o ACC desaminasa, pero si se demostraron otras características de promoción del crecimiento vegetal como la solubilización de fosfato, producción de ácido indol acético y sideróforos e incremento de la germinación, altura y biomasa de plántulas de trigo después de 3 semanas de inoculación. En sábila también se aislaron bacterias endófitas en las hojas, identificando *Herminiimonas saxobsidens* solubilizadora de fosfato y fijadora de nitrógeno (Fenella y Joshi, 2014).

Las bacterias aisladas de la rizósfera o los tejidos de las plantas deben ser investigadas para poder seleccionarlas, porque no todas tienen capacidad para promover el crecimiento vegetal o son consideradas PGPR (Vivanco et al., 2016). En este contexto, el 3,94% de las bacterias rizosféricas de sábila presentaron actividad de la enzima ACC desaminasa, porcentaje superior a 2,01% registrado por Zhou et al. (2017) en rizobacterias aisladas de plantas halófitas. Entre los mecanismos directos de las PGPR está la regulación del nivel de la fitohormona etileno, mediante la actividad ACC desaminasa, identificada también por Fenella y Joshi (2014) en *Bacillus thuringiensis* y *B. mycoides*; Suman et al. (2018) en *Bacillus* spp; Misra y Chauhan (2020) en *B. subtilis* y *B. safensis* y Maheshuari et al. (2020) en *B. mojavensis*.

Bajo condiciones de estrés el etileno se incrementa y se reduce el crecimiento de la raíz y el follaje. Las bacterias con actividad ACC desaminasa metabolizan el ACC o precursor del etileno al utilizarlo como fuente de nitrógeno y energía y de esta manera disminuyen el efecto negativo de la fitohormona e incrementan el desarrollo vegetal (Shrivastava y Kumar, 2015). En las raíces de las plántulas de arroz bajo estrés salino (150mM NaCl) se inocularon *Streptomyces* sp. GMKU 336 con actividad ACC desaminasa (T1), su mutante deficiente en la enzima (T2) y un testigo sin bacterias. En las plantas inoculadas con T1 se incrementó la clorofila, prolina, potasio, calcio y contenido de agua. Por el contrario, el etileno

($\mu\text{mol g DW}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) fue de 1,0 con T1; 2,0 con T2 y 2,2 con el testigo no inoculado, evidenciándose la disminución significativa de la fitohormona con T1 (Jaemsaeng et al., 2018).

Misra y Chauhan (2020) inocularon *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa en semillas de maíz sembradas con 100 mM NaCl y después de 30 días determinaron disminución de 35-50% en el contenido foliar de etileno y 26-50% en la actividad de la enzima ACC oxidasa (que convierte el ACC en etileno) en comparación con el testigo no inoculado. Por el contrario, aumento el contenido del ACC (precursor del etileno) y la actividad de la enzima ACC sintasa, que cataliza la conversión del S- adenosilmetionina (SAM) al ACC.

El incremento de la germinación de las semillas de rabanito por efecto de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa coincide con los reportes de Zhou et al. (2017) y Quin et al. (2014), quienes explicaron que el efecto positivo en la germinación de semillas no solo depende de la actividad ACC desaminasa porque en sus investigaciones el 87 y 70% de las bacterias con esta enzima no promovieron la germinación de las semillas bajo salinidad. Al respecto Zhang et al. (2020) observaron aumento de la tasa de germinación de semillas de maíz inoculadas con *Trichoderma harzianum* con actividad ACC desaminasa y relacionaron la promoción de la germinación con el aumento de la actividad de la α amilasa (Meena y Baljiet (2017) ; (Aly et al. 2012).

Las diferencias físicas observadas en las plantas de rabanito desarrolladas en los suelos salino y no salino fueron reportadas previamente por Jaemsaeng et al. (2018) en arroz; Qin et al. (2016) en *Limonium sinense* y Palaniyandi et al. (2014) en tomate. La salinidad causa disminución de la altura de las plantas, longitud de las raíces, peso de la biomasa aérea y radicular (Jaemsaeng et al., 2018), número de raíces laterales y biomasa total (Palaniyandi et al., 2014), número de hojas y volumen foliar (García et al., 2014). El impacto negativo en el crecimiento y desarrollo de las plantas por efecto de la salinidad puede ser explicado por la disminución de clorofila, potasio, calcio, contenido de agua y el aumento en

la concentración de sodio, etileno, prolina y malondialdehído que estima la peroxidación de lípidos (Jaemsaeng et al., 2018; Qin et al., 2016).

La disminución del impacto negativo de la salinidad observada con la inoculación de bacterias con actividad ACC desaminasa coincide con Jaemsaeng et al. (2018) y Yoolong et al. (2018) en arroz, quienes relacionaron el efecto benéfico bacteriano con el aumento de la clorofila, contenido de agua, prolina, potasio, calcio, y disminución del etileno, sodio, especies reactivas de oxígeno (ROS) y malondialdehído. Asimismo, Qin et al. (2016) determinaron en plantas de *L. sinense* inoculadas la restauración del contenido de clorofila, aumento de la actividad antioxidante (SOD, POD y CAT) y disminución del sodio en raíces y hojas y malondialdehído en las hojas. Por su parte, Palaniyandi et al. (2014) demostraron en plantas de tomate inoculadas incremento de clorofila y disminución de la prolina, en comparación con los testigos.

En plantas de maíz inoculadas con *Bacillus* spp. y desarrolladas bajo salinidad (100mm NaCl), se determinó incremento en la altura del tallo, longitud de raíces, número de hojas, biomasa fresca y seca, así como también aumento el contenido de clorofila total, carotenoides y azúcares solubles. Por el contrario, disminuyó el contenido de prolina y la actividad de las enzimas SOD, POD y CAT, sugiriéndose que las plantas inoculadas con *Bacillus* spp. presentaban un nivel muy bajo de estrés y por lo tanto de contenido de ROS que no justificó el incremento de la actividad enzimática antioxidativa (Misra y Chauhan, 2020).

La promoción del crecimiento de plantas bajo estrés salino por las bacterias rizosféricas de una planta como la sábila, adaptada a las condiciones de estrés por sequía coincide con el reporte Mayak et al., citados por Forni et al. (2016). Estos investigadores seleccionaron bacterias con actividad ACC desaminasa en suelos con sequía y salinidad y demostraron que su inoculación incrementó la biomasa de las plantas en condiciones de salinidad o de sequía. Por el contrario, las bacterias disminuyeron en forma significativa el etileno producido por las plantas tratadas. El efecto promotor de las bacterias en plantas

diferentes a su hospedero demuestran la versatilidad y el potencial para constituir inoculantes en distintos cultivos agrícolas (Chavez et al., 2016)

En la presente investigación los índices de efectividad de *Bacillus* spp. fueron mayores en la biomasa aérea que en la biomasa radicular de las plantas desarrolladas en suelos salino y no salino, superioridad que puede ser explicada porque el crecimiento de las hojas es generalmente más sensible al estrés osmótico que las raíces (Forni et al., 2016). La salinidad disminuye el crecimiento de las plantas especialmente en la parte aérea, donde se altera el intercambio de gases, se presenta el estrés oxidativo, se incrementan el etileno y ácido abscísico y disminuyen el ácido indolacético y las citoquininas. La alteración del perfil hormonal y el estrés oxidativo favorecen la senescencia y caída de las hojas, con disminución de la fotosíntesis y disponibilidad de carbohidratos y fitohormonas a las regiones meristemáticas (Acosta et al., 2017).

El incremento del contenido de clorofila en las hojas de las plantas de rabanito con bacterias coincide con el reporte de Min et al. (2017), quienes cuantificaron 35,9 (SPAD) en *B. amyloliquefaciens* y 32,1 (SPAD) en las plantas testigo. Las PGPR favorecen un mejor sistema radical que realiza una mayor absorción de agua y nutrientes, los cuales son utilizados por las hojas para sintetizar más pigmentos fotosintéticos, con promoción de crecimiento vegetal.

La promoción del crecimiento de las plantas en condiciones salinas por *Bacillus* spp. puede ser atribuida a la actividad ACC desaminasa (Qin et al., 2017), pero también a otras capacidades (Maheshwari et al. 2020, Sadeghi et al., 2012) demostradas en estas bacterias como la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato (Acurio et al., 2020), producción de auxinas (Sosa et al., 2019), giberelinas, citoquininas (Kim et al. 2017, Da Silva et al., 2015) y ácido abscísico (Kim et al., 2017)

Las PGPR constituyen una estrategia de bajo costo para el manejo del estrés por salinidad en las plantas, debido a su tolerancia a estas condiciones desfavorables, diversidad genética, síntesis de solutos compatibles, producción de reguladores de crecimiento y potencial de biocontrol (Shrivasta y Kumar, 2015).

Al respecto, Forni et al. (2016) concluyeron que los mecanismos de las PGPR utilizados para disminuir el estrés por salinidad y sequía son la actividad de la ACC desaminasa, producción de citoquininas, ácido indolacético, ácido abscísico, trehalosa, compuestos orgánicos volátiles y exopolisacáridos.

VI. CONCLUSIONES

6.1 En el 3,94% de las bacterias aisladas de la rizósfera de *Aloe vera* (L) Burm. f. se demostró la actividad de la enzima ACC desaminasa y tolerancia a 10% de cloruro de sodio.

6.2 Las rizobacterias con actividad de la enzima ACC desaminasa y tolerancia a 10% de cloruro de sodio se identificaron fenotípicamente en el género *Bacillus*.

6.3 Las rizobacterias incrementaron la tasa de germinación de semillas de *R. sativus* L. "rabanito" bajo estrés salino, alcanzando 18,64-43,61 con *Bacillus* spp. en comparación con 35 con el testigo.

6.4 Las rizobacterias *Bacillus* sp. 260-S, *Bacillus* sp. 188-S, *Bacillus* sp. 67-S y *Bacillus* sp. 13-S incrementaron la emergencia y el desarrollo de rabanito en suelos no salino y salino en condiciones de invernadero, alcanzando índices de efectividad de 203,85% en la altura; 66,67% en el número de hojas; 54,28% en el peso de la biomasa aérea y 172,57% en el peso de las raíces de las plantas desarrolladas en el suelo salino.

VII. RECOMENDACIONES

- Identificar a nivel molecular *Bacillus* sp. 260-S, *Bacillus* sp. 188-S, *Bacillus* sp. 67-S y *Bacillus* sp. 13-S.
- Investigar sustratos de bajo costo y fácil disponibilidad para el incremento masivo de las rizobacterias de sábila.
- Determinar el efecto de las bacterias rizosféricas de sábila en el crecimiento y desarrollo de cultivos agrícolas en condiciones de campo.

VIII. REFERENCIAS

- Acosta, J., Ortuño, M., Bernal, A., Díaz, P., Sánchez M., y Hernández, J. (2017). Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. *Agronomy*, 7(18), 1-38. <https://doi: 10.3390/agronomy7010018>
- Acurio, R., Mamarandi, E., Ojeda, A., Tenorio, E., Chiluisa, V. y Vaca, I. (2020). Evaluación de *Bacillus* spp. Como rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) en broccoli (*Brassica oleraceae* var. *italica*) y lechuga (*Latuca sativa*). *Ciencia Tecnológica Agropecuaria*, 21(3), 1-16. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1465
- Aly M., A. El Sayed, S. Jastaniah. 2012. Synergistic effect between *Azotobacter vinelandii* and *Streptomyces* sp. isolated from saline soil on seed germination and growth of wheat plant. *Journal of American Science*, 8 (5): 667-676.
- Alvarado, P., y Valderrama, M. (2014). *Caracterización de los géneros Burkholderia y Pseudomonas solubilizadoras de fosfato aisladas de Zea mays L. en el distrito de Reque en Lambayeque marzo-mayo, 2014* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/795/BC-TES-3603.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Alvitres, V. (2000). *Método Científico. Planificación de la Investigación*. (2da ed.). Editorial Ciencia.
- Angulo, V., Sanfuentes, E., Rodríguez, F., y Sossa, K. (2014). Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(4), 338 -347. [https://doi: 10.1016/S0325-7541\(14\)70093-8](https://doi: 10.1016/S0325-7541(14)70093-8)
- Antoun, H., y Prévost, D. (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: Z. Siddiqui (Ed), PGPR: biocontrol and biofertilization. (pp 1–38) Springer, Dordrecht.

- Avalos, R., Llenque, L., y Segura, R., (2016). Aislamiento y selección de cultivos nativos *Bacillus* sp. productor de amilasas a partir de residuos amiláceos del mercado La Hermelinda, Trujillo, Perú. *REBIOL*, 36(2), 16-26.
- Azadikhah, M., Jamali, F., Nooryazdan, H.R., y Bayat, F. (2019). Growth promotion and yield enhancement of barley cultivars using ACC desaminase producing *Pseudomonas fluorescens* strains under salt strees. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 17(1), 1-12. <https://doi.org/10.5424/sjar/2019171-13828>
- Chávez, Ll., Hernández, A., Cabrera, J., Luna, L., y Pacheco, J. (2016). Aislados de *Bacillus* provenientes de la rizosfera de cactus incrementan la germinación y la floración en *Mammillaria* spp. (Cactáceas). *Revista Argentina de Microbiología*, 48(4), 333-341.
- Contreras, H. y Carreño, C. (2018). Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado. *Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(1), 27-33. <https://doi: 10.25127/ucni.v1i1.269>
- Da Silva, J., Carvalho, T., Santos, L., Coentro, Y., Ubaldo, J., Mesquita, S., Silva, M. y Da Rocha, R. (2015). Potential of the endophytic bacteria (*Herbaspirillum* spp. and *Bacillus* spp.) to promote sugarcane growth. *Australian Journal of Crop Science*, 9(8), 754-760. <https://www.researchgate.net/publication/281830807>
- Ehling-Schulz, M., Lereclus, D. and Theresa M. (2019). The *Bacillus cereus* Group: *Bacillus Species with Pathogenic Potential*Koehler. *ASM Journalis*, 7(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0032-2018>
- War Nongkhilaw, Fenella Mary, y Joshi, S. R. (2014). Epiphytic and endophytic bacteria that promote growth of ethnomedicinal plants in the subtropical forests of Meghalaya, India. *Revista de Biología Tropical*, 62(4), 1295-1308. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442014000400004&lng=en&tlng=en.
- Forni, C., Duca, D. y Glick. (2017). Mecanismos de respuesta de las plantas al estrés por sequía y sal y su alteración por rizobacterias. *Plant Soil* 410, 335–356. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3007-x>

- Franco, V., Véliz, J. y Valerio, R. (2014). Algunos parámetros fisiológicos de *Aloe vera* (L.) Burm. f. (sábila) en Guayacán, Península de Araya, Estado Sucre, Venezuela. *Saber, Universidad de Oriente, Venezuela*, 26(1), 18-24.
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S131501622014000100004&lng=es&tlng=es.
- García, M., Franco, V. y Véliz, J. (2014). Crecimiento y contenido iónico de *Aloe vera* (L.) Burm. f. (sábila) bajo diferentes concentraciones de NaCl. *Saber, Universidad de Oriente, Venezuela*, 26(4), 385-394. [https://doi:10.13140/RG.2.1.2416.2723](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2416.2723)
- García, R., Lovaisa, N., y Ulla, E. (2015). Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfatos del Noroeste Argentino y su efecto en la promoción de crecimiento en maíz (*Zea mays* L.). *Revista agrónoma Noroeste Argentina*, 35(1), 13-28.
- García, F., y Muñoz, H. (2010). *Caracterización de cepas nativas de Azospirillum spp. y su efecto como promotoras del desarrollo vegetativo de arroz (Oryza sativa)*. [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo] Repositorio Institucional.
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5113748.pdf>
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación* (6^{ta} ed.). Mc Graw, Hill Interamericana Editores S.A.
- Holt, J., Krieg, N., Sneath, P., Staley, J. y Williams, S. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. (9th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Instituto Nacional de Defensa Civil, INDECI. (2003). Proyecto INDECI-PNUD PER/02/051 Ciudades sostenibles: Mapa de Peligros de la Ciudad de San José. Recuperado de:
http://bvpad.indeci.gob.pe/doc/estudios_CS/Region_lambayeque/izosféric/sanjose_mp.pdf.
- Instituto Nacional de Defensa Civil, INDECI. (2018). Proyecto INDECI-PNUD PER/02/051 Ciudades sostenibles: Mapa de Peligros de la Ciudad Oyotun. <http://www.indeci.gob.pe/wp-content/uploads/2018/09/OyotunB.mp.pdf>
- Jamsaeng, R., Jantasuriyarat, C. y Thamchaipenet, A. (2018). Positive role of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase-producing endophytic *Streptomyces* sp. GMKU 336 on flooding resistance of mung bean. *Agriculture and Natural Resources*, 52, 530-534.
<https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.09.008>

- Kim, M.J., Radhakrishnan, R., Kang, S.M., You, Y.H., Jeong, E.J., Kim, J.G. y Lee, I.J. (2017). Efecto promotor del crecimiento vegetal de *Bacillus amyloliquefaciens* H-2-5 en plantas de cultivo e influencias sobre los cambios fisiológicos en la Soja bajo la salinidad del suelo. *Fisiología y Biología Molecular de las Plantas: Una revista Internacional de Biología Vegetal Funcional*, 23(3), 571-580. <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0449-4>
- Maheshwari, R., Bhutani, Namita y Suneja, P. (2020). Isolation and characterization of ACC Deaminase Producing Endophytic *Bacillus mojavensis* PRN2 from *Pisum sativum*. *Revista Iraní de Biotecnología*, 18(2), 11-20. doi:10.30498/IJB.2020.137279.2308
- Molina, D., Bustillos, M., Rodríguez, O., Morales, Y., Santiago, Y., Castañeda, M. y Muñoz, J. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*, 17(2), 24-34. <http://www.researchgate.net/publication/293086504>
- Meena, T., y Baljeet, S. (2017). Plant growth promoting traits shown by bacteria *Brevibacterium frigiditolerans* SMA23 isolated from *Aloe vera* rhizosphere. *Agricultural Science Digest*, 37(3), 226-231. <https://doi:10.18805/asd.v37i03.9223>
- Ministerio de Agricultura, MINAGRI. (2002). Proyecto 0397-2005-INRENA-IANP/DPANP Área de Conservación Privada Chaparrí. Plan Maestro. <http://www.researchgate.net/publication/298945080>
- Orhan, F. (2016). Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 621-627. <https://doi:10.1016/j.bjm.2016.04.001>
- Palaniyandi, S.A., Damodharan, K., Yang, S.H. y Suh, J.W. (2014). *Streptomyces* sp. strain PGPA39 alleviates salt stress and promotes growth of "Micro Tom" tomato plants. *Applied Microbiology*, 117, 766-773. doi: 10.1111/jam.12563
- Penrose, D. y Glick, B. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118, 10-15. <https://doi:10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x>
- Porto de Souza, L., Blandon, L., Rodrigues, C., Candido, M., Vinícius de Melo, G., De Oliveira, J. y Soccol, C. (2017). Potential applications of plant probiotic microorganisms in agriculture and forestry. *AIMS Microbiology*, 3(3), 629-648. <https://doi:10.3934/microbiol.2017.3.629>

- Qin, S., Zhang, Y., Yuan, B., Yuan, P., Xing, K., Wang, J. y Jiang, J. (2014). Isolation of ACC desaminase-producing habitat-adapted symbiotic bacteria associated with halophyte *Limonium sinense* (Girard) Kuntze and evaluating their plant growth-promoting activity under salt stress. *Plant Soil*, 374, 753-766. [https://doi: 10.1007/s11104-013-1918-3](https://doi.org/10.1007/s11104-013-1918-3)
- Ramírez, J. (2015). *Caracterización de bacterias con actividad de ACC desaminasa, como promotoras del crecimiento en Lactuca sativa L. (Lechuga) bajo estrés salino* [tesis de pregrado, Universidad de Guadalajara] Repositorio Institucional. http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5990/R_amirez_Villalobos_Jesica_Maria.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Rueda, E., Villegas, J., Gerlach, L., Tarazón, M., Murillo, B., García, J., Troyo, E. y Preciado, P. (2009). Efecto de la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre la germinación de *Salicornia bigelovii*. *Terra Latinoamericana*, 27(4), 345-354. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57313040009>
- Sadeghi, A., Karimi, E., Abbaszadeh, P., Dalvand, Y., Omidvari, M. y Kakuei, M. (2012). Biocontrol activity of salt tolerant *Streptomyces* isolates against phytopathogens causing root of sugar beet. *Biocontrol Science and Technology*, 22(3), 333-349. <http://dx.doi.org/10.1080/09583157.2012.658552>
- Sánchez, D., Pérez, J y David, H. (2016). Efecto de las PGPB sobre el crecimiento de *Pennisetum clandestinum* bajo condiciones de estrés salino. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 18(1), 65-72. [https://doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.50413](https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.50413).
- Sathya, A., Vijayabharathi, R. y Gopalakrishnan, S. (2017). Plant Growth Promoting actinobacteria: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes. *Biotech*, 7 (2), 102. doi: 10.1007/s13205-017-0736-3
- Shahzad, S., Saleen, M., Ashraf, M., Abid, M., Usman, M., Riaz, M., Yasmeen, T. y Awais, M. (2015). Alleviation of abiotic stress in medicinal plants by PGPR. In D. Egamberdieva et al. (Eds), *Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR), and Medicinal Plants*, Soil Biology (pp. 135-166). Pakistan: Springer International Publisign Switzerland.

- Shrivastava, P. y Kumar, R. (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22, 123-131. doi: 10.1016/j.sjbs.2014.12.001
- Siddikee, M., Chauhan, P., Anandham, R., Han, G., y Sa, T. (2010). Isolation, characterization and use for plant growth promotion under salt stress of ACC deaminase – producing halotolerant bacteria derived from coastal soil. *Journal Microbiology Biotechnology*, 20(11), 1577-1584. doi: 10.4014/jmb.1007.07011
- Siddikee, M., Glick, B., Chauhan, S., Yim, W. y Sa, T. (2011). Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with halotolerant bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49, 427-34. doi: 10.1016/j.plaphy.2011.01.015
- Sifuentes, R., Pedrosa, A., Zegbe, J., y Trejo, R. (2020). Indicadores de productividad y calidad de gel de sábila en condiciones de estrés salino. *Fitotecnia Mexicana*, 43(2), 181-187. doi: 10.35196/rfm.2020.2.181
- Soca, R., Rojas, J., Willems, B., Ocola, L., Fernández, R., y Pérez, J. (2016). Identificación de las tierras degradadas por la salinidad del suelo en los cultivos de caña de azúcar mediante imágenes de satélite. *Investigación de Física*, 19(1), 1-9. <http://www.rif-fisica.org/images/2/2a/RIF-161901402.pdf>
- Suman, J., Uhlik, O., Viktorova, J., y Macek, T. (2018). Phytoextraction of heavy metals: a promising tool for clean-up of polluted environment. *Sciencedirect*, 9 (1476). <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844019361006>
- Szymánska, S., Plociniczak, T., Piotrowska, Z., y Hryniewicz, K. (2016). Endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Salicornia europaea* L. community structure and metabolic potential. *Microbiological Research*, 192, 37 – 51. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.05.012>.
- Tolba, S., Ibrahim, M., Amer, E. y Ahmed, D. (2019). First insights in to salt tolerance improment of *Stevia* by plant growth-promoting *Streptomyces* species. *Archives of Microbiology*, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01696-y>

- Vardharajula, S., Zulfikar, S., Grover, M., Gopal Reddy y Bandi, V. (2011). Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *Journal of Plant Interactions*, 6(1), 1-14, <https://doi.org/10.1080/17429145.2010.535178>
- Vivanco, R., Molina, D., Morales, Y., Quintero, V., Munive, A., Baez A. y Muñoz, J. (2016). Reto agrobiotecnológico: inoculantes bacterianos de segunda generación. *Alianzas y Tendencias*, 1(1), 4-18. http://www.ditco.buap.mx/recursos/documentos/revista/revista_uno.pdf
- War, F., y Joshi, S. (2014). Epiphytic and endophytic bacteria that promote growth of ethnomedicinal plants in the subtropical forests of Meghalaya, India. *Revista de Biología Tropical*, 62(4), 1295-1308. <https://doi.org/10.15517/rbt.v62i4.12138>
- Yoolong, S., Kruasuwan, W., Thanh, H., Jaemsaeng, R., Jantasuriyarat, C. y Thamchaipente, A. (2019). Modulation of salt tolerance in Thai Jasmine rice (*Oryza sativa* L. cv.KDML105) by *Streptomyces venezuelae* ATCC 10712 expressing ACC deaminase. *Scientific Reports*, 9(1275), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37987-5>
- Zhang, F., Dow, K., Liu, C., Cher, F., Wu, W., Yong, T., Li, L., Lice, T., y Yu, L. (2020). The application potential of *Trichoderma* T-soybean containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate for maize production. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 110, 101475.
- Zhang, S., Gan, Y. y Xu, B. (2019). Mechanisms of the IAA and ACC-deaminase producing strain of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in enhancing wheat seedling tolerance to NaCl stress. *BMC Plant Biology*, 19, 1-18. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1618-5>
- Zhiyu, Z., Huanhuan, Z., Jing, L., Huanqing, N., Xiaochun, C., Dong, L., Yong C., Nan G., Y Hanjie Y. (2020). Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria and their effects on the growth of *Medicago sativa* L. under salinity conditions. *Antonie van Leeuwenhoek*, 113, 1263-1278. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01434-1>
- Zhou, N., Zhao, S., y Tian, Ch. (2017). Effect of halotolerant rhizobacteria isolated from halophytes on the growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under salt stress. *FEMS Microbiology Letters*, 364(11), 1-8. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx091>

ANEXOS

Anexo A

Cálculo de número de muestras: raíz y suelo rizosférico de *Aloe vera* (en Alvitres, 2000)

$$n = \frac{z^2 (p \times q)}{t^2}$$

$$n = \frac{(1,96)^2 (0,90 \times 0,10)}{0,8^2}$$

$$n = 54,02$$

Donde:

n = Tamaño de la muestra

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

p = prevalencia o presencia de bacterias rizosféricas

q = 1-p, ausencia (0.10)

T = error estimado (0,8)

Anexo B
Medios de cultivo

a. Agar nutritivo, AN (en Alvarado y Valderrama, 2014)

Componentes	gL ⁻¹
peptona	5.0
Extracto de carne	3.0
Agar agar	15.0
Agua destilada	1000 mL

b. Caldo tripticasa Soya suplementado con triptófano (en García y Muñoz, 2010)

Componentes	gL ⁻¹
Peptona de caseína	17.0
Peptona de harina de soya	3.0
D(+) glucosa (dextrosa)	2.5
Cloruro de sodio	5.0
Fosfato dipotásico	2.5
Triptófano	0.01
Agua destilada csp	1000 mL

Disolver por calentamiento y ajustar a pH 7,3

c. Agar MacConkey (en Sáenz, 2009)

Componentes	gL ⁻¹
Agar	13.5
Mezcla de sales biliares	1.5
Cloruro de sodio	5.0
Peptona especial	3.0
Cristal violeta	0.001
Peptona de gelatina	17.0
Lactosa	10.0
Rojo neutro	0.03
Agua destilada	1000mL

d. Agar Plate Count (en Doyle, 2000)

Componentes	gL ⁻¹
Triptona	5.00
Extracto de levadura	2.50
Glucosa	1.00
Agar-agar	15.0
Agua destilada	1000mL

Anexo C

Análisis del suelo experimental: Mochumí



INFORME DE LABORATORIO CYSAG N° 020-2020

Solicitud de análisis N° : 020.
 Proyecto : Tesis.
 Solicitante : KIARA CARMEN CALLE
 Tipo de análisis : Caracterización
 Procedencia de la muestra :
 Parcela, Coordenadas, Area :
 Fecha de recepción de muestras : 21.01.2020.
 Fecha de reporte de resultados : 27.01.2020.

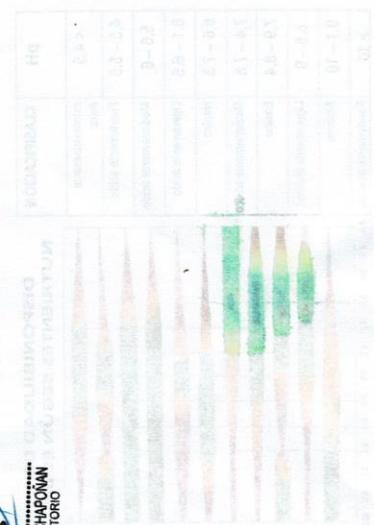
RUC : 20561187488
 E-MAIL : cysagperu@hotmail.com
 RPM : #941882746
 DIRECCIÓN : Km 1.5, Carretera a Pimentel
 Mz L, lote 7, P.J Miguel Grau
 Entrada: Frente a la UCY.

RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO.

Codigo de Muestra (suelo)	pH	CEc (dSm)	CaCO ₃ %	M.O %	P mg/kg	K mg/kg	Distribución de Partículas- USDA			D. ap g/cm ³	CIC Mg/100 g	Cationes Cambiables Mg/100 g			Cationes basicos cambiables		Cationes Acidos cambiables			
							Ao %	Lo %	Ar %			Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Σ CB	%SB	Σ CA	%SA
M1	7.01	3.17	3.80	3.75	57	207	73.16	13.64	13.20	1.57	10.80	7.44	2.31	0.40	0.65	0.00	10.80	100	0.00	0.00
M2	6.90	5.22	3.20	5.29	98	432	77.16	11.64	11.20	1.58	16.49	11.81	3.06	0.83	0.79	0.00	16.49	100	0.00	0.00



Clase textural	Fr.Ao	Fr.Lo	Fr.Ar
Fr.Ao	73.16	13.64	13.20
Fr.Lo	77.16	11.64	11.20



Clase textural	Fr.Ao	Fr.Lo	Fr.Ar
Fr.Ao	73.16	13.64	13.20
Fr.Lo	77.16	11.64	11.20

Análisis del suelo experimental: San José



RUC : 20561187488
 E-MAIL : cysagperu@hotmail.com
 RPM : #941882746
 DIRECCIÓN : Km 1.5, Carretera a Pimentel
 Mz L, lote 7, P.J. Miguel Grau
 Entrada: Frente a la UCV.

INFORME DE LA LABORATORIO CYSAG N° 442-2020

Solicitud de análisis N° :

Proyecto. : Tesis

Solicitarite. : KIARA CARMEN CALLE

Tipo de análisis. : Caracterización

Procedencia de la muestra :

Parcela, Coordenadas, Área.

Fecha de recepción de muestras. : 26.10.20

Fecha de reporte de resultados. : 02.11.20

RESULTADOS DE ANALISIS DE LABORATORIO

Código de Muestra (suelo)	pH	CEe (dSm)	CaCO ₃ %	M.O %	P mg/kg	K mg/kg	Distribución de Partículas-USDA			Clase textural	D.ap g/cm ³	CIC Meq/100g	Ca ²⁺	Cationes cambiabiles Meq/100g			Cationes basicos cambiabiles		Cationes ácidos cambiabiles		
							Ao %	Lo %	Ar %					Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	H ⁺ +Al ³⁺	ΣCB	%SB	ΣCA	%SA
MUESTRA 1	7.20	11.84	1.90	2.89	60	123	70.09	21.58	8.33	Fr.Ao	1.43	16.32	9.10	2.60	0.42	4.22	0.00	16.32	100	0.00	0.00
MUESTRA 2	7.34	10.12	2.10	3.18	40	107	66.15	24.22	9.63	Fr.Ao	1.43	17.29	10.50	3.00	0.35	3.44	0.00	17.29	100	0.00	0.00

CYSAG
 LABORATORIO AGRICOLA
 ANALISIS DE SUELOS Y AGUAS
 ING. AGRON. ROSOPASADIE CHAROAN
 RESPONSABLE DEL LABORATORIO
 REG. CP. N° 13247

Análisis de clorofila en hojas de suelo salino



CYSAG EIRL
 Consultorias y Servicios Analíticos Generales
 RUC: 20561187488
 E-mail: cysagperu@hotmail.com
 Cel: 941882746

Dirección: Km 1.5 carretera a Pimentel Mz L. Lote 7, P.J Miguel Grau

INFORME DE LABORATORIO CYSAG N° 512-2021

Solicitud de análisis N° : 512-2021
 Solicitante : UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
 Procedencia de la Muestra : LAMBAYEQUE
 Tipo de análisis : CLOROFILA, POTASIO Y SODIO

Cultivo / Proyecto : PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
 Parcela, Coordenadas, Área. :
 Fecha de recepción de muestras. : 06-08-2021
 Fecha de reporte de resultados. : 08-08-2021

RESULTADOS DE ANÁLISIS

Código de Muestra	Unidades		Unidades	
	SPAD	SPAD	SPAD	SPAD
T1R1	28.5	29.3	31.1	25.4
T1R2	32.2	27.5	31.3	22.7
T1R3	25.9	28.7	30.9	31.2
T2R1	34.1	33.3	35.4	32.6
T2R2	34.3	35.4	33.9	35.8
T2R3	31.9	34.3	34.5	33.8
T3R1	36.1	37.8	39.9	36.2
T3R2	40.1	37.9	36.6	38.9
T3R3	41.5	37.4	36.8	37.9



Anexo D

Morfología de bacterias Gram positivas aisladas de la rizósfera de *Aloe vera*.

N° Bacteria	Morfotipo	Forma
1	10	Bacilo
2	1	Bacilo
3	3	Bacilo
4	10	Bacilo
5	1	Bacilo
6	1	Bacilo
7	10	Bacilo
8	1	Bacilo
9	10	Bacilo
10	11	Bacilo
11	1	Bacilo
12	1	Bacilo
13	10	Bacilo
14	1	Bacilo
15	11	Bacilo
16	10	Bacilo
17	10	Bacilo
18	10	Bacilo
19	3	Filamentos
20	1	Cocobacilo
21	1	Bacilos
22	3	Coco
23	11	Cocobacilo
24	1	Bacilo
25	3	Bacilo
26	10	Bacilo
27	10	Coco

28	3	Bacilo
29	3	Bacilo
30	1	Bacilo
31	11	Bacilo
32	1	Bacilo
33	10	Bacilo
34	11	Bacilo
35	1	Bacilo
36	10	Bacilo
37	11	Bacilo
38	8	Bacilo
39	3	Bacilo
40	1	Bacilo
41	12	Bacilo
42	9	Bacilo
43	8	Bacilo
44	8	Bacilo
45	12	Bacilo
46	10	Bacilo
47	3	Bacilo
48	7	Bacilo
49	11	Bacilo
50	8	Bacilo
51	3	Bacilo
52	10	Bacilo
53	11	Bacilo
54	3	Bacilo
55	9	Bacilo
56	12	Bacilo
57	10	Bacilo
58	3	Bacilo

59	1	Bacilo
60	9	Bacilo
61	7	Bacilo
62	8	Bacilo
63	12	Bacilo
64	3	Bacilo
65	11	Bacilo
66	7	Bacilo
67	12	Coco
68	8	Bacilo
69	9	Bacilo
70	1	Bacilo
71	11	Bacilo
72	12	Cocobacilo
73	6	Bacilo
74	11	Bacilo
75	9	Bacilo
76	12	Bacilo
77	12	Bacilo
78	7	Filamento
79	11	Bacilo
80	3	Filamento
81	7	Bacilo
82	10	Bacilo
83	8	Bacilo
84	9	Bacilo
85	12	Bacilo
86	9	Bacilo
87	12	Bacilo
88	7	Bacilo
89	12	Bacilo

90	9	Bacilo
91	12	Bacilo
92	9	Bacilo
93	1	Bacilo
94	3	Bacilo
95	1	Bacilo
96	10	Bacilo
97	11	Bacilo
98	1	Bacilo
99	3	Bacilo
100	9	Bacilo
101	9	Bacilo
102	3	Bacilo
103	10	Bacilo
104	12	Bacilo
105	12	Bacilo
106	8	Bacilo
107	1	Bacilo
108	3	Bacilo
109	12	Bacilo
110	9	Bacilo
111	3	Bacilo
112	1	Bacilo
113	12	Bacilo
114	11	Bacilo
115	9	Bacilo
116	3	Bacilo
117	11	Bacilo
118	10	Bacilo
119	9	Bacilo
120	3	Bacilo

121	3	Bacilo
122	10	Bacilo
123	10	Bacilo
124	11	Bacilo
125	1	Bacilo
126	11	Bacilo
127	5	Bacilo
128	11	Bacilo
129	9	Bacilo
130	10	Bacilo
131	2	Bacilo
132	10	Bacilo
133	10	Bacilo
134	3	Bacilo
135	10	Bacilo
136	3	Bacilo
137	1	Bacilo
138	5	Bacilo
139	11	Bacilo
140	1	Bacilo
141	1	Bacilo
142	2	Bacilo
143	10	Bacilo
144	9	Bacilo
145	10	Bacilo
146	10	Bacilo
147	1	Bacilo
148	12	Bacilo
149	10	Bacilo
150	11	Bacilo
151	1	Bacilo

152	8	Bacilo
153	1	Bacilo
154	1	Bacilo
155	5	Bacilo
156	10	Bacilo
157	5	Bacilo
158	11	Bacilo
159	10	Bacilo
160	2	Bacilo
161	10	Bacilo
162	1	Bacilo
163	10	Bacilo
164	1	Bacilo
165	10	Bacilo
166	6	Bacilo
167	1	Bacilo
168	10	Bacilo
169	10	Bacilo
170	10	Bacilo
171	3	Bacilo
172	10	Bacilo
173	12	Bacilo
174	1	Bacilo
175	10	Bacilo
176	10	Bacilo
177	3	Bacilo
178	7	Bacilo
179	10	Bacilo
180	10	Bacilo
181	7	Cocobacilo
182	1	Bacilo

183	9	Bacilo
184	10	Bacilo
185	1	Cocobacilo
186	12	Coco
187	7	Cocobacilo
188	1	Bacilo
189	1	Cocobacilo
190	10	Bacilo
191	10	Bacilo
192	4	Bacilo
193	10	Bacilo
194	11	Bacilo
195	10	Bacilo
196	1	Bacilo
197	4	Bacilo
198	10	Bacilo
199	10	Bacilo
200	12	Bacilo
201	10	Bacilo
202	4	Bacilo
203	1	Bacilo
204	12	Bacilo
205	4	Bacilo
206	1	Bacilo
207	7	Bacilo
208	10	Bacilo
209	4	Bacilo
210	1	Bacilo
211	10	Bacilo
212	1	Bacilo
213	4	Bacilo

214	4	Bacilo
215	10	Bacilo
216	3	Bacilo
217	4	Bacilo
218	10	Bacilo
219	6	Bacilo
220	1	Bacilo
221	4	Bacilo
222	12	Bacilo
223	3	Bacilo
224	10	Bacilo
225	10	Bacilo

Anexo E

Morfología de bacterias Gram negativas aisladas de la rizósfera de *Aloe vera*

N° de bacteria	Morfotipo	Forma
1	B	Bacilo
2	A	Cocobacilo
3	D	Bacilo
4	A	Bacilo
5	A	Cocobacilo
6	B	Bacilo
7	B	Bacilo
8	A	Cocobacilo
9	B	Bacilo
10	D	Bacilo
11	B	Cocobacilo
12	D	Cocobacilo
13	A	Bacilo
14	C	Bacilo
15	D	Cocobacilo
16	A	Bacilo
17	A	Bacilo
18	B	Bacilo
19	B	Cocobacilo
20	C	Bacilo
21	B	Bacilo
22	B	Cocobacilo
23	B	Bacilo
24	B	Cocobacilo
25	B	Bacilo
26	D	Bacilo
27	A	Cocobacilo
28	A	Cocobacilo

29	B	Bacilo
30	A	Cocobacilo
31	D	Bacilo
32	A	Bacilo
33	B	Bacilo
34	A	Cocobacilo
35	D	Cocobacilo
36	C	Bacilo
37	A	Cocobacilo
38	B	Cocobacilo
39	A	Bacilo
40	B	Bacilo
41	B	Bacilo
42	A	Cocobacilo
43	B	Cocobacilo
44	D	Bacilo
45	B	Cocobacilo
46	B	Cocobacilo
47	A	Cocobacilo
48	D	Cocobacilo
49	A	Bacilo
50	D	Cocobacilo
51	B	Cocobacilo
52	A	Cocobacilo
53	A	Cocobacilo
54	A	Cocobacilo

Anexo F

Frecuencia de cultivos de bacterias Gram positivas y Gram negativas en muestras de suelo rizosférico de Aloe vera L. Burm. f., Lambayeque 2019

Número de muestra	Cultivos de bacterias		
	Gram positivos	Gram negativos	Total
1	4	2	6
2	4	2	6
3	2	2	4
4	5	2	7
5	6	3	9
6	3	3	6
7	3	3	6
8	3	1	4
9	5	1	6
10	6	1	7
11	8	1	9
12	5	0	5
13	8	1	9
14	7	0	7
15	7	0	7
16	9	2	11
17	10	0	10
18	2	0	2
19	5	0	5
20	6	0	6
21	4	1	5
22	6	0	6
23	6	1	7
24	5	1	6
25	1	0	1
26	4	0	4
27	2	0	2
28	4	1	5
29	3	0	3
30	6	1	7
31	3	1	4
32	4	1	5
33	3	0	3
34	2	2	4
35	4	3	7
36	4	1	5
37	4	2	6
38	5	0	5

39	2		1	3
40	3		1	4
41	4		0	4
42	3		1	4
43	4		1	5
44	3		0	3
45	3		2	5
46	4		0	4
47	3		2	5
48	3		1	4
49	3		1	4
50	2		2	4
51	3		0	3
52	3		1	4
53	3		2	5
54	1		0	1
Total	225	54		279

Anexo G

N° Bacteria	Sulfato de amonio		ACC	
	Absorbancia (600nm)	Absorbancia corregida	Absorbancia (600nm)	Absorbancia corregida
Blanco	0,062		0,081	
1	0,069	0,007	0,070	0
2	0,637	0,575	0,056	0
3	0,446	0,384	0,058	0
4	0,865	0,803	0,173	0
5	0,498	0,436	0,080	0
6	0,963	0,901	0,082	0
7	0,334	0,272	0,051	0
8	0,898	0,836	0,185	0,104
9	1,201	1,139	0,441	0,360
10	0,326	0,264	0,099	0,018
11	0,988	0,926	0,116	0,035
12	0,058	0	0,070	0
13	0,354	0,292	0,592	0,511
14	0,079	0,017	0,048	0
15	0,909	0,847	0,059	0
16	0,787	0,725	0,103	0,022
17	0,884	0,822	0,081	0
18	0,633	0,571	0,069	0
19	0,062	0	0,069	0
20	0,848	0,786	0,052	0
21	0,902	0,840	0,173	0,092
22	0,090	0,028	0,040	0
23	0,230	0,168	0,069	0

24	0,238	0,176	0,497	0,416
25	0,168	0,106	0,060	0,021
26	1,471	1,409	0,090	0.009
27	0,064	0,002	0,038	0,043
28	0,095	0,033	0,084	0,003
29	0,408	0,346	0,043	0,038
30	0,232	0,170	0,070	0,011
31	0,175	0,113	0,072	0,009
32	0,213	0,151	0,107	0,026
33	1,340	1,278	0,074	0,007
34	1,182	1,120	0,052	0.029
35	1,327	1,265	0,055	0.026
36	0,075	0,013	0,081	0
37	0,112	0,050	0,094	0.013
38	1,401	1,339	0,094	0.013
39	1,135	1,073	0,092	0.011
40	0,910	0,848	0,084	0.003
41	1,581	1,519	0,079	0
42	0,277	0,215	0,076	0
43	0,081	0,019	0,040	0.041
44	1,410	1,348	0,186	0.105
45	1,454	1,392	0,145	0.064
46	0,174	0,112	0,078	0
47	0,172	0,110	0,042	0
48	0,294	0,232	0,115	0.034
49	0,155	0,093	0,104	0.023
50	0,168	0,106	0,063	0
51	0,495	0,433	0,155	0.074
52	0,209	0,147	0,172	0.091
53	0,963	0,901	0,071	0
54	0,197	0,135	0,102	0.021

55	0,097	0,035	0,058	0
56	0,177	0,115	0,141	0,060
57	1,416	1,354	0,079	0
58	0,058	0	0,089	0,008
59	1,440	1,378	0,084	0,003
60	1,120	1,058	0,109	0,028
61	0,090	0,028	0,087	0,006
62	0,062	0	0,042	0
63	0,431	0,369	0,148	0,067
64	0,953	0,891	0,120	0,039
65	0,121	0,059	0,058	0
66	0,412	0,350	0,084	0,003
67	0,534	0,472	0,558	0,477
68	1,343	1,281	0,093	0,012
69	0,082	0,020	0,047	0
70	0,075	0,013	0,090	0,009
71	0,067	0,005	0,079	0
72	1,021	0,959	0,081	0
73	0,213	0,151	0,063	0
74	0,313	0,251	0,050	0
75	0,180	0,118	0,042	0
76	0,774	0,712	0,119	0,038
77	0,296	0,234	0,045	0
78	0,060	0	0,045	0
79	0,279	0,217	0,070	0
80	0,108	0,046	0,154	0,073
81	0,791	0,729	0,078	0
82	0,552	0,490	0,046	0
83	1,145	1,083	0,138	0,057
84	0,336	0,274	0,186	0,105
85	0,510	0,448	0,102	0,021

86	0,130	0,068	0,047	0
87	0,476	0,414	0,095	0,014
88	0,677	0,615	0,076	0
89	0,315	0,253	0,075	0
90	0,846	0,784	0,086	0,005
91	0,077	0	0,072	0
92	0,056	0,006	0,057	0
93	0,579	0,517	0,540	0,459
94	0,577	0,515	0,115	0,034
95	0,365	0,303	0,041	0
96	0,134	0,072	0,054	0
97	0,123	0,061	0,074	0
98	0,660	0,598	0,295	0,214
99	0,525	0,463	0,065	0
100	0,139	0,077	0,125	0,044
101	0,163	0,101	0,058	0
102	0,075	0,013	0,056	0
103	0,204	0,142	0,055	0
104	0,075	0,013	0,056	0
105	0,080	0,018	0,093	0,012
106	0,054	0	0,090	0,009
107	0,069	0,007	0,125	0,044
108	0,102	0,040	0,045	0
109	0,499	0,437	0,088	0,007
110	0,074	0,012	0,074	0
111	0,439	0,377	0,180	0,099
112	0,115	0,053	0,223	0,142
113	0,134	0,072	0,051	0
114	0,552	0,490	0,132	0,051
115	1,360	1,298	0,141	0,060
116	0,088	0,026	0,052	0

117	0,658	0,596	0,103	0,022
118	0,741	0,679	0,097	0,016
119	0,036	0,026	0,087	0,006
120	0,086	0,024	0,101	0,020
121	1,265	1,203	0,107	0,026
122	0,082	0,020	0,058	0
123	0,430	0,368	0,160	0,079
124	0,364	0,302	0,139	0,058
125	0,690	0,628	0,128	0,047
126	0,529	0,467	0,079	0
127	1,162	1,100	0,071	0
128	0,731	0,669	0,084	0,003
129	0,166	0,104	0,049	0
130	0,396	0,334	0,132	0,051
131	0,075	0,013	0,062	0
132	1,151	1,089	0,051	0
133	1,009	0,947	0,125	0,044
134	0,467	0,405	0,049	0
135	0,215	0,153	0,095	0,014
136	0,197	0,135	0,084	0,003
137	0,746	0,684	0,151	0,070
138	0,127	0,065	0,062	0
139	0,213	0,151	0,136	0,055
140	0,463	0,401	0,114	0,033
141	0,269	0,207	0,147	0,066
142	0,402	0,340	0,164	0,083
143	0,215	0,153	0,053	0
144	0,373	0,311	0,072	0
145	0,754	0,692	0,076	0
146	0,781	0,719	0,086	0,005
147	0,647	0,585	0,079	0

148	0,795	0,733	0,093	0,012
149	0,123	0,061	0,082	0,001
150	1,524	1,462	0,142	0,061
151	1,435	1,373	0,054	0
152	0,705	0,643	0,124	0,043
153	0,271	0,209	0,111	0,030
154	0,688	0,626	0,131	0,050
155	0,818	0,756	0,070	0
156	1,739	1,677	0,082	0,001
157	0,434	0,372	0,080	0
158	1,813	1,751	0,108	0,027
159	0,196	0,134	0,090	0,009
160	0,324	0,262	0,513	0,432
161	0,246	0,184	0,151	0,070
162	0,470	0,408	0,090	0,009
163	1,318	1,256	0,084	0,003
164	0,286	0,224	0,048	0
165	0,469	0,407	0,041	0
166	0,517	0,455	0,091	0,010
167	0,076	0,014	0,071	0
168	0,059	0	0,047	0
169	1,024	0,962	0,070	0
170	0,076	0,014	0,054	0
171	0,101	0,039	0,095	0,014
172	1,088	1,026	0,043	0
173	0,868	0,806	0,124	0,043
174	0,619	0,557	0,071	0
175	0,569	0,507	0,150	0,069
176	0,485	0,423	0,155	0,074
177	0,665	0,603	0,065	0
178	0,134	0,072	0,081	0

179	0,163	0,101	0,123	0,042
180	0,090	0,028	0,050	0
181	0,580	0,518	0,079	0
182	1,650	1,588	0,113	0,032
183	1,288	1,226	0,044	0
184	0,255	0,193	0,078	0
185	0,993	0,931	0,063	0
186	0,387	0,325	0,142	0,061
187	0,075	0,013	0,064	0
188	0,199	0,137	0,122	0,041
189	0,104	0,042	0,185	0,104
190	0,083	0,021	0,054	0
191	0,229	0,167	0,189	0,108
192	0,928	0,866	0,072	0
193	0,453	0,391	0,047	0
194	0,496	0,434	0,491	0,410
195	0,250	0,188	0,073	0
196	0,648	0,586	0,129	0,048
197	0,099	0,037	0,100	0,019
198	0,300	0,238	0,089	0,008
199	0,690	0,628	0,178	0,097
200	0,108	0,046	0,053	0
201	0,380	0,318	0,090	0,009
202	0,703	0,641	0,112	0,031
203	0,096	0,034	0,074	0
204	0,137	0,075	0,064	0
205	0,192	0,130	0,189	0,108
206	0,157	0,095	0,088	0,007
207	0,371	0,309	0,060	0
208	0,126	0,064	0,086	0,005
209	0,089	0,027	0,070	0

210	0,065	0,003	0,074	0
211	0,286	0,224	0,058	0
212	0,560	0,498	0,096	0,015
213	0,864	0,802	0,174	0,093
214	0,650	0,588	0,062	0
215	0,259	0,197	0,118	0,037
216	0,148	0,086	0,121	0,040
217	1,228	1,166	0,072	0
218	0,367	0,305	0,079	0
219	0,152	0,090	0,057	0
220	0,799	0,737	0,105	0,024
221	0,367	0,305	0,069	0
222	0,131	0,069	0,068	0
223	0,276	0,214	0,074	0
224	0,229	0,167	0,105	0,024
225	0,382	0,320	0,108	0,027
226	0,598	0,536	0,109	0,028
227	0,151	0,089	0,073	0
228	0,229	0,167	0,109	0,028
229	0,435	0,373	0,121	0,040
230	0,779	0,717	0,173	0,092
231	0,620	0,558	0,120	0,039
232	0,084	0,022	0,102	0,021
233	0,096	0,034	0,058	0
234	1,188	1,126	0,060	0
235	1,317	1,255	0,060	0
236	0,305	0,243	0,107	0,026
237	0,431	0,369	0,034	0
238	0,062	0	0,044	0
239	0,055	0,007	0,059	0
240	1,334	1,272	0,262	0,181

241	0,196	0,134	0,099	0,018
242	0,881	0,819	0,061	0
243	1,272	1,210	0,118	0,037
244	0,391	0,329	0,151	0,070
245	0,154	0,092	0,070	0
246	1,054	0,992	0,058	0
247	1,275	1,213	0,140	0,059
248	0,111	0,049	0,073	0
249	0,088	0,026	0,105	0,024
250	0,132	0,070	0,075	0
251	1,125	1,063	0,069	0
252	0,654	0,592	0,057	0
253	0,393	0,331	0,109	0,028
254	0,145	0,083	0,044	0
255	0,358	0,296	0,098	0,017
256	0,450	0,388	0,135	0,054
257	0,411	0,349	0,084	0,003
258	0,476	0,414	0,120	0,039
259	0,099	0,037	0,065	0
260	0,070	0,008	0,063	0
261	0,148	0,088	0,169	0,086
262	0,112	0,050	0,065	0
263	0,781	0,719	0,046	0
264	0,395	0,333	0,077	0
265	0,277	0,215	0,100	0,019
266	0,374	0,312	0,131	0,050
267	0,120	0,058	0,080	0
268	0,660	0,598	0,083	0
269	0,171	0,109	0,056	0
270	0,129	0,067	0,087	0,006
271	0,280	0,218	0,079	0

272	0,417	0,355	0,057	0
273	0,218	0,156	0,106	0,025
274	0,506	0,444	0,130	0,049
275	0,414	0,352	0,145	0,064
276	0,092	0,030	0,082	0,001
277	0,762	0,700	0,131	0,050
278	0,064	0,002	0,047	0
279	0,544	0,482	0,196	0,115
280	0,625	0,563	0,034	0

Anexo H

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores de altura de *Raphanus sativus* L., 15 días después de la inoculación de *Bacillus* spp en un suelo no salino

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk				
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.	
Testigo	0,987	3	0,780	
B 260	0,750	3	0,000	
B188	1,000	3	1,000	
B 67	0,750	3	0,000	
B 13	0,964	3	0,637	

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene					
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.	
Basado en la media	0,680	4	10	0,622	
Basado en la mediana	0,455	4	10	0,767	
Mediana y con gl ajustado	0,455	4	8,391	0,767	
Media recortada	0,668	4	10	0,629	

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	44,542	4	11,135	23,239	0,000
Dentro de grupos	4,792	10	0,479		
Total	49,333	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores de altura de *Raphanus sativus* L., 20 días después de la inoculación de *Bacillus* spp en un suelo no salino

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk				
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.	
Testigo	0,253	3	0,637	
B 260	0,175	3	1,000	
B188	0,362	3	0,122	
B 67	0,219	3	0,780	
B 13	0,219	3	0,780	

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Basado en la media	5,167	4	10	0,016
Basado en la mediana	0,553	4	10	0,701
Mediana y con gl ajustado	0,553	4	2,558	0,718
Media recortada	4,459	4	10	0,025

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	76,375	76,375	19,094	19,094	0,000
Dentro de grupos	10,000	10,000	1,000		
Total	86,375	86,375			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores de altura de *Raphanus sativus* L., 25 días después de la inoculación de *Bacillus* spp en un suelo no salino

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk			
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.
Testigo	0,292	3	0,463
B 260	0,219	3	0,780
B188	0,287	3	0,485
B 67	0,276	3	0,537
B 13	0,253	3	0,637

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Basado en la media	4,702	4	10	0,021
Basado en la mediana	1,166	4	10	0,382
Mediana y con gl ajustado	1,166	4	2,558	0,473
Media recortada	4,315	4	10	0,028

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	130,942	4	32,735	14,936	0,000
Dentro de grupos	21,917	10	2,192		
Total	152,858	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores de altura de *Raphanus sativus* L., 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp en un suelo no salino

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk			
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.
Testigo	0,292	3	0,463
B 260	0,253	3	0,637
B188	0,253	3	0,637
B 67	0,204	3	0,843
B 13	0,269	3	0,567

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Basado en la media	1,767	4	10	0,212
Basado en la mediana	0,577	4	10	0,686
Mediana y con gl ajustado	0,577	4	6,031	0,690
Media recortada	1,657	4	10	0,235

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	127,142	4	31,785	41,915	0,000
Dentro de grupos	7,583	10	,758		
Total	134,725	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores del número de hojas de *Raphanus sativus* L., 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp en un suelo no salino

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk				
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.	
Testigo	0,253	3	0,637	
B 260	0,385	3	0,000	
B188	0,175	3	1,000	
B 67	0,385	3	0,000	
B 13	0,175	3	1,000	

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Basado en la media	0,969	4	10	0,466
Basado en la mediana	0,592	4	10	0,676
Mediana y con gl ajustado	0,592	4	6,748	0,680
Media recortada	0,947	4	10	0,476

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	12,733	4	3,183	9,795	,002
Dentro de grupos	3,250	10	,325		
Total	15,983	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores de la biomasa aérea de *Raphanus sativus* L., 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp en un suelo no salino

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk				
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.	
Testigo	0,304	3	0,407	
B 260	0,175	3	1,000	
B188	0,361	3	0,132	
B 67	0,219	3	0,780	
B 13	0,304	3	0,407	

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Basado en la media	1,191	4	10	0,373
Basado en la mediana	0,169	4	10	0,949
Mediana y con gl ajustado	0,169	4	5,517	0,946
Media recortada	1,061	4	10	0,425

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	908,083	4	227,021	141,519	,000
Dentro de grupos	16,042	10	1,604		
Total	924,125	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores del peso de raíces de *Raphanus sativus* L., 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp en un suelo no salino

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk				
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.	
Testigo	0,219	3	0,780	
B 260	0,276	3	0,537	
B188	0,204	3	0,843	
B 67	0,219	3	0,780	
B 13	0,253	3	0,637	

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Basado en la media	1,136	4	10	0,394
Basado en la mediana	0,573	4	10	0,688
Mediana y con gl ajustado	0,573	4	6,567	0,692
Media recortada	1,095	4	10	0,411

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	157,308	4	39,327	24,970	0,000
Dentro de grupos	15,750	10	1,575		
Total	173,058	14			

Anexo I

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores de altura de *Raphanus sativus* L., 15 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. En un suelo salino

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk			
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.
Testigo	0,871	3	0,298
B 260	0,980	3	0,726
B188	0,803	3	0,122
B 67	0,942	3	0,537
B 13	0,997	3	0,900

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	1,359	4	10	0,315
Se basa en la mediana	0,217	4	10	0,923
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,217	4	4,558	0,917
Se basa en la media recortada	1,218	4	10	0,363

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	38,108	4	9,527	5,818	0,011
Dentro de grupos	16,375	10	1,638		
Total	54,483	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores de altura de *Raphanus sativus* L., 20 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo salino

Shapiro-Wilk				
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.	
Testigo	1,000	3	1,000	
B 260	0,842	3	0,220	
B188	0,837	3	0,206	
B 67	0,980	3	0,726	
B 13	0,993	3	0,843	

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	1,181	4	10	0,376
Se basa en la mediana	0,234	4	10	0,913
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,234	4	5,062	0,908
Se basa en la media recortada	1,078	4	10	0,418

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	40,808	4	10,202	4,164	0,031
Dentro de grupos	24,500	10	2,450		
Total	65,308	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores de altura de *Raphanus sativus* L., 25 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo salino

Shapiro-Wilk			
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.
Testigo	0,936	3	0,510
B 260	0,923	3	0,463
B188	0,866	3	0,286
B 67	0,818	3	0,157
B 13	0,885	3	0,339

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	2,503	4	10	0,109
Se basa en la mediana	0,329	4	10	0,853
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,329	4	5,443	0,849
Se basa en la media recortada	2,166	4	10	0,147

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	109,642	4	27,410	6,462	,008
Dentro de grupos	42,417	10	4,242		
Total	152,058	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores de altura de *Raphanus sativus* L., 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo salino

Shapiro-Wilk				
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.	
Testigo	0,885	3	0,339	
B 260	0,964	3	0,637	
B188	0,795	3	0,103	
B 67	0,786	3	0,081	
B 13	0,980	3	0,726	

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	3,060	4	10	0,069
Se basa en la mediana	0,260	4	10	0,897
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,260	4	4,722	0,891
Se basa en la media recortada	2,561	4	10	0,104

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	146,192	4	36,548	4,559	0,024
Dentro de grupos	80,167	10	8,017		
Total	226,358	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores de número de hojas de *Raphanus sativus* L., 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo salino

Shapiro-Wilk			
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.
Testigo	0,964	3	0,637
B 260	0,997	3	0,900
B188	0,972	3	0,679
B 67	0,750	3	0,000
B 13	0,862	3	0,274

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	2,135	4	10	0,151
Se basa en la mediana	0,720	4	10	0,598
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,720	4	5,805	0,610
Se basa en la media recortada	2,007	4	10	0,169

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	23,917	4	5,979	2,911	,078
Dentro de grupos	20,542	10	2,054		
Total	44,458	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores de la biomasa aérea de *Raphanus sativus* L., 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo salino

Shapiro-Wilk			
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.
Testigo	0,893	3	0,363
B 260	0,991	3	0,817
B188	0,993	3	0,843
B 67	0,942	3	0,537
B 13	0,818	3	0,157

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	1,972	4	10	0,175
Se basa en la mediana	1,112	4	10	0,403
Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,112	4	5,109	0,442
Se basa en la media recortada	1,915	4	10	0,184

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	60,475	4	15,119	4,161	0,031
Dentro de grupos	36,333	10	3,633		
Total	96,808	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores del peso de raíces de *Raphanus sativus* L., 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo salino

Shapiro-Wilk			
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.
TESTIGO	0,964	3	0,637
B 260	0,980	3	0,726
B188	0,997	3	0,893
B 67	0,893	3	0,363
B 13	0,842	3	0,220

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene				
Tratamientos	Estadístico	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	1,758	4	10	0,214
Se basa en la mediana	1,188	4	10	0,374
Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,188	4	5,173	0,415
Se basa en la media recortada	1,725	4	10	0,221

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	150,542	4	37,635	8,302	0,003
Dentro de grupos	45,333	10	4,533		
Total	195,875	14			

Prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y análisis de varianzas de los valores del contenido de clorofila (SPAD) en las hojas de *Raphanus sativus* L., 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo salino

Shapiro-Wilk			
Tratamientos	Estadístico	gl	Sig.
TESTIGO	0,844	3	0,142
B 188	0,882	3	0,280
B 260	0,867	3	0,215

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,530	2	15	0,055

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	218,641	2	109,321	27,476	0,003
Dentro de grupos	59,682	15	3,979		
Total	278,323	17			