

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Escuela de Posgrado

DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

EFECTO DEL CONSORCIO *Azospirillum sp.* y *Azotobacter sp.*
EN EL CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DEL CULTIVO DE
Allium cepa L. var. amarilla “cebolla” EN CONDICIONES
DE CAMPO LOS PICHONES - TACNA

TESIS

PRESENTADA POR:

M.Sc. ISABEL ANCCO OLIVA

Para optar el Grado Académico de:

DOCTORA EN CIENCIAS AMBIENTALES

TACNA - PERÚ

2016

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA

Escuela de Posgrado

DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**EFFECTO DEL CONSORCIO *Azospirillum sp.* y *Azotobacter sp.* EN EL
CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DEL CULTIVO DE *Allium cepa* L. var.
amarilla “cebolla” EN CONDICIONES DE CAMPO LOS PICHONES -
TACNA**

Tesis sustentada y aprobada el 23 de marzo del 2016; estando el jurado
calificador integrado por:


PRESIDENTE :


.....
Dra. Rosario Elena Zegarra Vda. de Chávez

SECRETARIO :


.....
Dr. Adilio Augusto Portella Valverde

MIEMBRO :


.....
Dr. Julio Miguel Fernández Prado

ASESOR :


.....
Dr. Oscar Octavio Fernández Cutire

AGRADECIMIENTO

A mi familia, en especial a mis hijos, que me alentaron para seguir superándome.

A los docentes de la Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, por sus sabias enseñanzas.

DEDICATORIA

A la memoria de mis padres, por sus eternas bendiciones

*A mis hijos por su constante motivación y apoyo, para
continuar superándome*

*En memoria de mi hermana Lucía, quien me alentó cada día a
continuar en el camino de la superación*

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
CONTENIDO	v
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema	06
1.1.1. Problema General	08
1.1.2 Problemas Específicos	09
1.2 Objetivos.....	09
1.2.1. Objetivo general	09
1.2.2. Objetivos específicos	10
1.3 Hipótesis	10
1.4 Justificación de la investigación.....	11

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación	13
2.2. Base teórica	32
2.2.1. Cebolla: filogenia e historia evolutiva	32
2.2.2. Clasificación taxonómica	32
2.2.3 Variedades botánicas	33
2.2.4 Características morfológicas	34
2.2.5 Ciclo fenológico	37
2.2.6 Condiciones agroecológicas	38
2.2.7 Género <i>Azospirillum</i> sp.	41
2.2.8 Azotobacter	44
2.2.9 Fitohormonas	48
2.3. Definición de términos	55

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo investigación	57
3.2. Diseño de la investigación	57
3.3. Población y muestra	58
3.4. Variables de experimentación	58
3.5. Lugar de experimentación	59
3.6. Procedimiento (fase de laboratorio y de campo)	61

3.7. Procedimiento de análisis de datos	78
---	----

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Tamaño de hoja de cebolla	79
4.2. Calibre del bulbo de cebolla	82
4.3. Producción de bulbos de cebolla	86
4.4. Prueba de hipótesis	91

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Discusión	104
CONCLUSIONES	110
RECOMENDACIONES	111
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	112
ANEXOS	130

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.-	Análisis de varianza de tamaño de hoja de <i>Allium cepa</i> L. var. Amarilla “Cebolla”	79
Tabla 2.-	Análisis de varianza de largo de bulbos de <i>Allium cepa</i> L. var. Amarilla “Cebolla”	82
Tabla 3.-	Análisis de varianza de ancho de bulbos de <i>Allium cepa</i> L. var. Amarilla “Cebolla”	84
Tabla 4.-	Análisis de varianza de producción de bulbos de <i>Allium cepa</i> L. var. Amarilla “Cebolla”	86
Tabla 5.-	Rendimiento de <i>Allium cepa</i> L. var. Amarilla “Cebolla” (kg/parcela).....	89
Tabla 6.-	Rendimiento de <i>Allium cepa</i> L. var. Amarilla “Cebolla” (t/ha)	90

Tabla 7.-	Prueba de normalidad	92
Tabla 8.-	Prueba de Levene.....	96
Tabla 9.-	Prueba de rangos	97
Tabla 10.-	Prueba de Kruskal-Wallis	97
Tabla 11.-	Pruebas de post hoc Duncan	98
Tabla 12.-	ANOVA.....	99
Tabla 13.-	Prueba de Rangos	100
Tabla 14.-	Prueba de Kruskal-Wallis.....	100
Tabla 15.-	ANOVA	102
Tabla 16.-	Pruebas de post hoc Duncan	103

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.-	Longitud de hoja de <i>Allium cepa</i> L. var. Amarilla “Cebolla” en centímetros por unidad experimental 80
Figura 2.-	Largo de bulbo de <i>Allium cepa</i> L. var. Amarilla “Cebolla” en centímetros por unidad experimental 83
Figura 3.-	Ancho de bulbo de <i>Allium cepa</i> L. var. Amarilla “Cebolla” en centímetros por unidad experimental 85
Figura 4.-	Producción de bulbos de <i>Allium cepa</i> L. var. Amarilla “Cebolla” por unidad experimental 87
Figura 5.-	Gráfico Q-Q normal hoja 93
Figura 6.-	Gráfico Q-Q normal largo de bulbo 93
Figura 7.-	Gráfico Q-Q normal ancho de bulbo 94
Figura 8.-	Gráfico Q-Q normal producción 94

RESUMEN

El objetivo fue determinar el efecto del consorcio *Azospirillum*_sp. y *Azotobacter* sp. en el crecimiento y producción del cultivo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” en condiciones de campo Los Pichones – Tacna. El diseño experimental utilizado fue el diseño de cuatro bloques completos aleatorios con 4 tratamientos y 4 repeticiones con un total de 400 unidades experimentales. Entre los principales resultados, se encontró que las plantas de cebolla inoculadas con la bacteria *Azotobacter* sp (T₁) *Azospirillum* s.p (T₂); consorcio *Azotobacter* s.p. + *Azospirillum* s.p (T₃), tuvieron similares parámetros biométricos, en cuanto al tamaño de las hojas, calibre del bulbo en comparación con las plantas sin inoculación (T₀: Testigo). Se concluye, la inoculación de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” con *Azospirillum* sp. , *Azotobacter* sp. y el consorcio *Azospirillum* sp. + *Azotobacter* sp. causaron un efecto similar en la uniformidad del crecimiento y desarrollo (P: >0,05) de *Allium cepa* L.

Palabras clave: biofertilizante / *Azospirillum* sp/ *Azotobacter* sp/ Consorcio *Azospirillum* y *Azotobacter* sp / *Allium cepa* L.

ABSTRACT

The objective was to determine the effect of Azospirillum sp consortium. and Azotobacter sp. growth and crop yield of Allium cepa L. var. Yellow "Onion" in conditions of field Pichones - Tacna. The experimental design was the design of four randomized complete block with 4 treatments and 4 repetitions with a total of 400 experimental units. Among the main results, it was found that onion plants inoculated with the bacterium Azotobacter sp (T1) Azospirillum S. P (T2); Azotobacter consortium S. P. Azospirillum S. P + (T3), had similar biometric parameters, regarding the size of the leaves, bulb size compared to plants without inoculation (T0: Control). It is concluded, inoculation of Allium cepa L. var. Yellow "Onion" with Azospirillum sp. , Azotobacter sp. and the consortium Azospirillum sp. + Azotobacter sp. caused a similar effect on the uniformity of growth and development ($P > 0.05$) of Allium cepa L

Keywords: biofertilizer / Azospirillum sp / Azotobacter sp / Consortium Azospirillum and Azotobacter sp / Allium cepa L.

RESUMO

O objetivo foi determinar o efeito de *Azospirillum* sp consórcio. e *Azotobacter* sp. crescimento e produtividade da cultura da *Allium cepa* L. var. Yellow "cebola" em condições de Pichones campo - Tacna. O delineamento experimental foi o desenho de quatro blocos ao acaso com 4 tratamentos e 4 repetições, com um total de 400 unidades experimentais. Entre os principais resultados, verificou-se que as plantas de cebola inoculados com a bactéria *Azotobacter* SP (T1) *Azospirillum* S. P (T2); *Azotobacter* consórcio S. P. *Azospirillum* S. P + (T3), tinham parâmetros biométricos semelhantes, em relação ao tamanho das folhas, tamanho do bulbo comparação com plantas sem inoculação (T0: Controlo). Conclui-se, inoculação de *Allium cepa* L. var. Yellow "Cebola" com *Azospirillum* sp. , *Azotobacter* sp. eo consórcio *Azospirillum* sp. + *Azotobacter* sp. causou um efeito semelhante sobre a uniformidade de crescimento e desenvolvimento ($P > 0,05$) da *Allium cepa* L.

Palavras-chave: biofertilizante / *Azospirillum* sp / sp *Azotobacter* / *Azospirillum* e *Azotobacter* sp Consortium / *Allium cepa* L.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la tendencia de la agricultura sostenible en el planeta, se inclina por la disminución creciente del uso de agroquímicos, lo que sin duda, contribuye a la protección del medio ambiente y del ser humano.

Asimismo, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2015) señala que:

El uso de fertilizantes variará ampliamente según la región geográfica en los próximos años, con una fuerte demanda de nitrógeno y potasio de África subsahariana, aunque a partir de bajos niveles de uso actuales. Asia en su conjunto seguirá siendo el mayor consumidor de fertilizantes en el mundo y depende de las importaciones de los tres principales nutrientes. Incluso, si Asia occidental sigue suministrando importantes excedentes de nitrógeno, fosfato y potasio, Europa en conjunto también tendrá un superávit de los tres nutrientes debido a los elevados balances positivos en Europa del Este y Asia Central. Se espera que el uso de fertilizantes hasta 2018 se mantenga estable en Europa occidental, mientras que crecerá un 3,6 por ciento al año en la subregión

oriental. América Latina y el Caribe dependerán de las importaciones de los tres nutrientes durante el periodo de la previsión, durante el cual se espera que el uso de fertilizantes en la región crezca a un sostenido ritmo anual del 3,3 por ciento, según la FAO. Las diferencias en la demanda global de nitrógeno seguirán siendo grandes entre continentes. En 2018, África demandará 4,1 millones de toneladas, Europa 15,7 millones, las Américas 23,5 millones y Asia 74,2 millones de toneladas.

En este sentido, los fertilizantes químicos y su uso, en muchos casos han determinado problemas ecológicos y económicos, que en los últimos años han contribuido a la búsqueda de diversas corrientes de agricultura orgánica, los cuales promuevan una nueva concepción de producción agropecuaria, para así lograr una agricultura de bajos insumos y de mayor productividad (Borda, 2009). Es así, que la utilización de microorganismos autóctonos benéficos y potenciadores en la fijación del Nitrógeno y estimulación del crecimiento vegetal en los sistemas productivos, es una alternativa viable y sumamente importante para lograr un desarrollo agrícola ecológicamente sostenible, ya que permite una producción a bajo costo, no contamina el ambiente, y mantiene la conservación del suelo desde el punto de vista de fertilidad y biodiversidad (Mantilla y Oviedo, 2011), siendo particularmente los

géneros *Azotobacter* sp. y *Azospirillum* sp. agentes promotores de crecimiento vegetal debido a su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico y producir hormonas de tipo indólico. Al respecto, se sabe que la inoculación con “cepas de *Azospirillum* sp. (bacteria de vida libre, fijadora de nitrógeno, aislada de la rizósfera y productora de fitohormonas (Villa, Mayek, García , Hernández) seleccionadas ha permitido reducir hasta en 50% el uso de los fertilizantes minerales (N,P,K) sin que disminuya el rendimiento del cultivo, e incluso se obtiene 5-10% de aumento respecto a los cultivos fertilizados con el 100% del fertilizante mineral” (Caballero, Onofre, Estrada y Martínez, 2007).

En el caso del Perú, la agricultura convencional como en otros lugares del mundo, está basada en el uso de agroquímicos como insecticidas, fungicidas, fertilizantes, herbicidas y otros productos sintéticos, lo cual conduce a un alto nivel de contaminación ambiental y del producto, afectando la salud de los consumidores; siendo la principal alternativa de solución a la actual problemática, la agricultura sustentable, la cual es una combinación de métodos genéticos, agronómicos, biotecnológicos y químicos en un sistema de producción económicamente rentable, el cual optimiza la calidad del producto, protege el medio ambiente y la salud humana.

Los microorganismos existentes en el suelo no son solo capaces de fijar el nitrógeno atmosférico, de aumentar la capacidad extractiva de nutrientes por parte del sistema radical de las plantas y de solubilizar fósforo insoluble en el suelo, sino que también son productores de sustancias promotoras o inhibidoras del crecimiento vegetal y tienen en general un sin número de funciones en el suelo, de gran interés teórico y práctico para la producción agropecuaria. Cabe mencionar que las bacterias fijadoras de nitrógeno que se desarrollan de forma natural en el suelo, se conocen desde hace más de un siglo, y representan un biofertilizante ecológico, agrupadas en dos y se dividen en dos conjuntos: las simbióticas, específicas de las leguminosas, como el *Rhizobium* y las asimbióticas, que viven en el suelo y no necesitan la planta para su reproducción, como el *Azotobacter* y el *Azospirillum*, entre los más importantes en agricultura (Anónimo, 2013).

La situación expuesta, evidencia la creciente necesidad de utilizar suplementos o abonos para mantener las contingentes de producción agrícola. En tal sentido, es necesario buscar alternativas para disminuir el impacto ambiental creciente, lo que hace necesario el uso de abonos orgánicos como: estiércol, compost, humus, abonos verdes, etc. con el objetivo de lograr una agricultura ecológica. Por tanto, en el presente

estudio se utilizó biofertilizantes basados en un consorcio *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. para mejorar el crecimiento y producción del cultivo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” en la Región Tacna.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

La agricultura convencional en el Perú, como en otros lugares del mundo, actualmente se basa en el uso de fertilizantes químicos (insecticidas, fungicidas, fertilizantes, herbicidas y otros productos sintéticos), lo que conlleva a un impacto ambiental, como ensalitramiento de los suelos, pérdida de la fertilidad natural, lixiviación de nutrientes más allá de la zona radical de los cultivos, emisión de gases, efecto invernadero y contaminación de aguas superficiales y subterráneas; como también de daños a la “salud animal y humana” (Cueto y Figueroa, 2012,1).

En tal sentido, una alternativa de solución para desarrollar una agricultura sustentable, es la combinación de métodos genéticos, agronómicos, biotecnológicos y químicos en orden a lograr un sistema de producción rentable y sostenible, que a su vez optimice la calidad del producto, proteja el medio ambiente y la salud humana.

Se sabe que los microorganismos existentes en el suelo no son solo capaces de fijar el nitrógeno atmosférico, de aumentar la capacidad extractiva de nutrientes por parte del sistema radical de las plantas y de solubilizar fósforo insoluble en el suelo, sino que también son productores de sustancias promotoras o inhibidoras del crecimiento vegetal y tienen en general un sin número de funciones en el suelo.

Por tanto , es evidente que existe la creciente necesidad de utilizar suplementos o abonos para mantener las contingentes de producción agrícola, sin embargo, para disminuir el deterioro ambiental , resulta necesario la utilización de abonos orgánicos como estiércol, *compost*, *humus*, abonos verdes, etc. con el objetivo de lograr una agricultura ecológica, especialmente en la producción de cebolla, ya que según la OIA de la Dirección Regional Agraria de Tacna, se requiere incentivar e incrementar la producción de cebolla, ya que la superficie cultivada en la provincia de Jorge Basadre en los últimos diez años, ha sufrido un decremento de 4065 has en el 2001 a 3489 has en el 2010 (sin considerar las áreas de producción de Cinto y Pampa Sitana) , a pesar de los esfuerzos de la municipalidad de Locumba, Ite e Ilabaya por mejorar la producción (Municipalidad Provincial Jorge Basadre, 2012,57), encontrándose factores como las malas prácticas, derivadas de la no

rotación de cultivos, la escasez de semillas de calidad, el *uso indiscriminado de agroquímicos*, la no eliminación de residuos de cosecha, deficientes uso de prácticas agronómicas diferentes al empleo de plaguicidas, entre otras, que determinan un sistema de producción de la cebolla no solo altamente contaminante, sino que también encarece los costos de producción y que además afecta la salud de los consumidores y de los propios productores.

Por lo expuesto, la presente investigación pretende determinar si el uso de biofertilizantes basado en un consorcio *Azospirillum sp.* y *Azotobacter sp.* mejora el crecimiento y producción del cultivo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” , lo que permitirá sin duda, contribuir a un manejo ecológico del agrosistema , como requisito fundamental para buscar la sostenibilidad, rentabilidad y competitividad del sistema de producción de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” en la Región Tacna.

1.1.1. Problema general

¿Cuál es el efecto de la aplicación del consorcio *Azospirillum sp.* y *Azotobacter sp.* en el crecimiento y producción del cultivo de *Allium cepa* L. var. amarilla en condiciones de campo Los Pichones – Tacna?

1.1.2. Problemas específicos

- a) ¿Cuál es el efecto del consorcio *Azospirillum* sp. + *Azotobacter* sp. sobre la uniformidad del crecimiento y desarrollo vegetativo del *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” ?
- b) ¿Cuál es el efecto de la inoculación de *Azospirillum* sp. en la uniformidad del crecimiento y desarrollo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”?
- c) ¿Cuál es el efecto de la inoculación de *Azotobacter* sp. en la uniformidad del crecimiento y desarrollo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del consorcio *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. en el crecimiento y producción del cultivo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” en condiciones de campo en Los Pichones de Tacna.

1.2.2. Objetivos específicos

- a) Determinar cuál es el efecto del consorcio *Azospirillum* sp. + *Azotobacter* sp. sobre la uniformidad del crecimiento y desarrollo vegetativo del *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”.
- b) Determinar cuál es el efecto de la inoculación de *Azospirillum* sp. en la uniformidad del crecimiento y desarrollo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”.
- c) Determinar cuál es el efecto de la inoculación de *Azotobacter* sp. en la uniformidad del crecimiento y desarrollo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”.

1.3. Hipótesis

- **Hipótesis general**

El consorcio *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. incrementa el crecimiento y producción del cultivo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” en condiciones de campo.

- **Hipótesis específicas**

- a) El consorcio *Azospirillum sp.* y *Azotobacter sp.* incrementa el crecimiento de la hoja de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” en condiciones de campo.
- b) El consorcio *Azospirillum sp.* y *Azotobacter sp.* incrementa el crecimiento del largo del bulbo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” en condiciones de campo.
- c) El consorcio *Azospirillum sp.* y *Azotobacter sp.* incrementa el crecimiento del ancho del bulbo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” en condiciones de campo.
- d) El consorcio *Azospirillum sp.* y *Azotobacter sp.* incrementa la producción de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” en condiciones de campo.

1.4. Justificación de la investigación

Relevancia científico – social: el problema es importante ya que los resultados permitieron evaluar la efectividad de la inoculación de microorganismos benéficos (consorcio *Azospirillum sp.* y *Azotobacter sp.*) en la productividad de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”, teniendo en cuenta que en la Región Tacna, el cultivo de la cebolla representa un renglón importante en el sector hortícola y su rendimiento medio

actualmente está por debajo de lo reportado en otras regiones productoras.

Relevancia práctica: los resultados permitieron evaluar la efectividad de microorganismos para la producción orgánica , con menor dependencia de insumos externos como combustibles, plaguicidas y fertilizantes, a fin de aumentar el rendimiento, la rentabilidad y la inocuidad en el cultivo de la cebolla .

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Se ha localizado, investigaciones relacionadas con las variables de estudio:

En Colombia, Valderrama L., Herrada J. y Cuervo L. (2012) evaluaron el *Efecto de biopreparados Azospirillum sp., Azotobacter sp. y Trichoderma sp. como estimuladores en la germinación de esquejes de caña de azúcar (Saccharum Officinarum L.)*. El propósito de este trabajo fue evaluar la acción de un biopreparado compuesto por *Azospirillum sp, Azotobacter sp y Trichoderma sp.*, como estimulador de la germinación de semilla de *Sacchorum officínarum L.*(CC 85—92). El porcentaje de germinación (%G) de los esquejes pretratados con el biopreparado fue comparado con el % G de esquejes tratados solo con un fungicida comercial y el %G de esquejes sin tratamiento alguno. Para cada tratamiento se usaron 75 esquejes, seleccionados al azar. El número de rebrotes germinados se evaluó a los 14, 35 y 41 días post-siembra. El %G con el biopreparado fue del 80%, mientras que con el protector de

semillas fue de solo un 58% ($P = 0,0001$; 9510%144,8-77,9). Con el control se obtuvo solo un 54% ($P = <0,0001$; 9510%:42,2—66,4). En conclusión, el uso del biopreparado fue significativamente más efectivo para estimular la germinación de las semillas de caña de azúcar. Estos resultados constituyen un precedente para la realización de experimentos de mayor envergadura que incluyan la evaluación del costo / efectividad y la producción en los cultivos.

En Nuevo León, Peña, Martínez, Pinales, Aguirre, Díaz y Mata (2009) realizaron el estudio denominado *Producción de cebolla Allium Cepa L. orgánica mediante inoculantes microbianos*. El propósito del estudio fue estudiar el efecto de la inoculación con microorganismos benéficos en la productividad de cebolla (cv. *Kristal*), bajo manejo de agricultura orgánica. Los tres tratamientos evaluados fueron la inoculación de la rizobacteria *Azospirillum brasilense*, el hongo micorrízico arbuscular (HMA) *Glomus intraradices* y un testigo absoluto. Se estimó la producción de fruto y la población de esporas de HMA en el suelo. También se obtuvo las tendencias productivas mediante el ajuste de una ecuación de regresión lineal múltiple para la variable peso de fruto. El mayor rendimiento ($p < 0,05$) se obtuvo con *G. intraradices*, al registrar una producción de 24,3 k ha y no se encontraron diferencias entre *A.*

brasiliense y el testigo. El diámetro longitudinal y ecuatorial del fruto influenciaron el peso (R^2 : 0,929). Las poblaciones de esporas de HMA en el suelo se observaron de manera semejante en los tratamientos con los dos microorganismos. La inoculación de *G. intraradices* mostró la mayor productividad comparada con el resto de los tratamientos evaluados bajo el sistema de agricultura orgánica. Concluyen que la micorriza arbuscular formada por *G. intraradices* fue la que más impactó en la productividad de la cebolla bajo agricultura orgánica. Se ajustó una ecuación a la variable dependiente peso del bulbo, utilizando como variables independientes a los diámetros ecuatoriales y verticales. La mayor población de esporas de HMA se observó en los tratamientos con *G. intraradices* y *A. brasilense*.

En el Perú, Escobar, Horna, Carreño y Mendoza (2011), realizaron el estudio denominado *Caracterización de cepas nativas de Azotobacter spp. y su efecto en el desarrollo de Lycopersicon esculentum Mill. "tomate" en Lambayeque*. El objetivo del estudio fue caracterizar y determinar el efecto de cepas nativas de *Azotobacter* spp. en el desarrollo vegetativo de *Lycopersicon esculentum Mill. "tomate"*, como una alternativa al uso indiscriminado de fertilizantes químicos. Se tomaron muestras de raíces y suelo rizosférico de hortalizas con las que se realizaron diluciones (10^{-4}) en caldo Ashby-Sacarosa y se incubaron a 30

°C hasta observar un color amarillo, turbidez y película superficial. El género *Azotobacter* se identificó en agar mineral sin nitrógeno y Ashby-Benzoato, obteniéndose 96 cepas con una producción de 7.10 a 57.99 mgL⁻¹ de ácido indolacético, 0.13 a 1.64 mgL⁻¹ de nitrógeno fijado como amonio y hasta 1.61 % de eficiencia en la solubilización de roca fosfórica de Bayóvar. Se obtuvo una suspensión celular (10⁸) de cada una de las cuatro cepas con los mayores valores y se inocularon independientemente y en consorcio, así como una combinación con 50 % de urea-100 % de roca fosfórica, en la rizósfera de tomate cv. Río Grande, en un diseño experimental completamente aleatorio. Todas las cepas nativas incrementaron la altura, volumen radicular, materia seca total, parte aérea y radicular frente al testigo absoluto.

En Argentina, Ortiz, Do Nascimento, Dublan y Curatti (2012) , realizaron el estudio denominado *Association with an Ammonium-Excreting Bacterium Allows Diazotrophic Culture of Oil-Rich Eukaryotic Microalgae*, con el propósito de desarrollar tecnología de biocombustibles de basado en la posibilidad de biofertilización nitrógeno por bacterias diazotróficas aplicadas a las microalgas cultivadas como materia prima prometedora para la próxima generación de biocombustibles. Hemos obtenido una cepa mutante *Azotobacter vinelandii* que se acumula varias

veces más de amonio en medio de cultivo de células de tipo salvaje. El amonio excretado por las células mutantes es biodisponible para promover el crecimiento de microalgas *nondiazotrophic*. Por otra parte, esta simbiosis sintética fue capaz de producir una biomasa de microalgas rica en petróleo usando tanto el carbono y el nitrógeno del aire. Este trabajo proporciona una prueba de concepto de que la simbiosis artificial puede ser considerada como una estrategia alternativa para el cultivo de baja N-intensivo de microalgas para la producción sostenible de biocombustibles de próxima generación y otros bioproductos.

En Persia, Soleimanzadeh y Gooshchi (2013) indagaron sobre los efectos de *Azotobacter* y nitrógeno fertilizante químico en el rendimiento y componentes de trigo (*Triticum sativum L.*). El efecto de la inoculación de la semilla por *Azotobacter* y diferentes niveles de fertilización nitrogenada en el crecimiento fue estudiado en el experimento de granja durante las temporadas de cultivo 2010-2011. Los tratamientos del experimento fueron arreglados en factorial basada en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Cuatro niveles de fertilizante de nitrógeno de 25, 50, 75 y 100% N recomendada con dos niveles de *Azotobacter*: fueron asignados con y sin *Azotobacter* (control) en una combinación factorial. Según los resultados de este experimento, la aplicación de *Azotobacter*

tenía un apropiado rendimiento y podría aumentar el desarrollo de grano a un nivel aceptable, así que se podría considerar como conveniente sustituto del fertilizante químico nitrogenado en los sistemas agrícolas orgánicos.

En Cuba, León, Hernández, Rodríguez y Martínez (2012), indagaron sobre la *Aplicación de Azotobacter chroococcum en la producción de plántulas de tabaco negro*. Se introdujeron en la práctica productiva los resultados obtenidos en la Estación Experimental del Tabaco de San Juan y Martínez, Pinar del Río. El trabajo se realizó en los semilleros tradicionales pertenecientes a la Empresa Tabacalera de San Juan y Martínez, con el objetivo de demostrar la factibilidad de la aplicación de biofertilizantes en la producción de plántulas de tabaco. Los resultados mostraron que con la aplicación de *Azotobacter chroococcum*, se lograron mejorar las características morfológicas de las plántulas, como el diámetro y longitud del tallo y la masa fresca y seca total. Además se redujo el ciclo del semillero en siete días. La variante biofertilizada tuvo el mejor comportamiento económico en comparación con la testigo, con valores de utilidades por hectárea de \$ 23 344,9, rentabilidad de 127,05 % y costos de \$ 0,44 por cada peso recibido.

En Colombia, Borda, Pardo, Salvador y Martínez (2011) realizaron el estudio *Influencia de la materia orgánica y Azotobacter nigricans en un cultivo de Stevia rebaudiana B.* El propósito fue evaluar el efecto de la materia orgánica y un biofertilizante con base en *Azotobacter nigricans* en un cultivo de *Stevia rebaudiana* ubicado en el departamento de Meta, Colombia. Se establecieron cinco tratamientos: T1 y T2 incorporando al cultivo *compost* de residuos domiciliarios en concentraciones de 15 y 30 ton ha⁻¹ respectivamente; T3 y T4 con las mismas concentraciones de *compost* e inoculado con el biofertilizante y T5 solamente con el biofertilizante. El control correspondió a las condiciones normales de cultivo con *compost Bokashi*. El crecimiento vegetal se evaluó por determinación de biomasa en peso seco, producción y área foliar. El análisis fisicoquímico de suelo incluyó: porcentaje carbono orgánico, humedad y pH. Entre los principales resultados se encontró que la inoculación del biofertilizante produjo un incremento en la velocidad de mineralización del *compost*, con % CO final de 4,85 entre los 90 y 180 días. Se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre la producción de biomasa de T2 (1538 kg ha⁻¹) y el control (477 kg ha⁻¹). Respecto al contenido de sólidos solubles T1, T3 y T4 presentaron los más altos valores de °Brix (12,4: 12,35 y 12,15). Concluyeron que la concentración 30 ton ha⁻¹ presentó los mejores rendimientos de biomasa

y la aplicación del biofertilizante mostró una correlación positiva con la mineralización del *compost* y síntesis de glucósidos.

En Argentina, Lara, García y Oviedo (2011), realizaron el estudio *Efecto biofertilizante del preparado: residuos vegetales -bacteria nativa diazótropa, sobre las variables biométricas en plántulas de Rhapanus sativus*. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto biofertilizante de un preparado elaborado con residuos sólidos vegetales (RSV) procedentes del mercado y la bacteria nativa diazótropa *Azotobacter* A15M2G. Se elaboraron biopreparados utilizando diferentes concentraciones de bacteria (10^6 , 10^7 y 10^8 UFC) en un medio de cultivo obtenido a partir del 25% p/v de cada uno de los siguientes RSV: *Brassica oleracea* (repollo), *Lactuca sativa* (lechuga) y *Allium fistulosum* (cebollín). Los biopreparados fueron evaluados en plantas de rábano (*Rhapanus sativus*) en invernadero, utilizando un diseño estadístico completamente al azar de 5 tratamientos con 3 repeticiones: T1, control; T2, semillas pregerminadas tratadas con RSV al 25% p/v; T3, semillas pregerminadas con bioinoculante de 10^6 UFC; T4, semillas pregerminadas con bioinoculante de 10^7 UFC; T5, semillas pregerminadas con bioinoculante de 10^8 UFC. Se evaluó: número de hojas, área foliar, longitud de la planta, longitud de la raíz y peso seco de toda la planta (ensayos por triplicado).

Se observó un incremento altamente significativo en peso seco para T5 (0,88 g) y T4 (1,10 g); y diferencias significativas en el área foliar, para los mismos tratamientos, con un valor superior a 2000 cm². El biopreparado con bacterias nativas y RSV mejoró el crecimiento y desarrollo de las plantas de rábano, pudiéndose dar un valor agregado a estos residuos y de esta manera obtener un biofertilizante potencialmente utilizable en otros cultivos.

Asimismo, se consigna antecedentes, relacionados con la bacteria *Azospirillum*:

En México, Villa L., Mayek N., García J. y Hernández J. (2014), realizaron el estudio *Efecto de la inoculación en maíz con cepas nativas de Azospirillum sp*, en la cual se evaluó el resultado de la inoculación en maíz con tres cepas nativas de *Azospirillum sp*. en condiciones de invernadero, aisladas del suelo cultivado con sorgo, en el crecimiento de híbridos de maíz. Las cepas de *Azospirillum sp* mostraron efectos diferentes en la producción de biomasa. La cepa patrón incrementó significativamente el peso seco de la planta. Concluyen que a) la inoculación con cepas de género de *Azospirillum sp* en maíz mostró respuestas positivas en cuanto a la producción de biomasa en las especies de maíz inoculado y b) los aislados de *Azospirillum sp* (Patrón 9,

IPN -33.ipn-35) estimuló el desarrollo del maíz con mayor intensidad en la raíz y en la altura de la planta.

En México, Rangel J., Rodríguez M., Ferrera R., Castellanos J., Ramírez R., Alvarado E. (2011) investigaron sobre *la Afinidad y Efecto de Azospirillum s.p. en maíz*. El bioensayo se desarrolló en la estación primavera –verano. Se colectó la raíz de maíz Palomero Toluqueño, Cacahuacintle, Cónico, Chalqueño y H-20, y de Teocintle, y después de aislar y purificar las cepas sobresalientes por actividad nitrogenasa (N'asa), se reinocularon ascépticamente en las mismas variedades en estadio de plántula de 13 días de edad (dde) en hidroponía. Se midió el volumen de la raíz, que también se acondicionó para determinar la población bacteriana y N'asa a los 60 dde de maíces y Teocintle. *Azospirillum* no influyó en el volumen radical en relación con la fertilización nitrogenada, pero el estudio comparativo demostró que las cepas aisladas de maíces Cónico y Chalqueño, además de Teocintle, formaron mayor tejido radical en maíz Chalqueño. A pesar de que la mayor población bacteriana se obtuvo con la cepa aislada de H-28 inoculada en maíces Chalqueño, H-28 y Cónico, los mayores registros de N'asa ocurrieron con cepas provenientes de H-28, Palomero Toluqueño y Chalqueño inoculadas en maíz Chalqueño. Hubo algún grado de afinidad, o efecto de

la cepa homóloga, entre *Azospirillum* obtenida de maíces H-28 y Chalqueño y su reinoculación en estas mismas variedades, al evaluar el número de azospirilas y N'asa y un reconocimiento de *Azospirillum* de maíces de origen reciente por ancestros del mismo cereal.

En México, Castillejo (2011), investigó sobre la *Aplicación de Azospirillum y su efecto en la calidad y rendimiento de fresa (Fragaria x ananassa) Var. Albion cultivada en invernadero*. Se evaluaron 7 tratamientos: T 1= Fertilización nitrogenada 100% 8 (FN 100%), T2= consorcio de *Azospirillum* 1 (AZ1), T3= Consorcio de *Azospirillum* 2 (AZ2), T4= AZ1+ fertilización nitrogenada 50% (FN 50%), T5 =AZ2 +FN 50%N, T6=FN50%N y T7= Agua. Se determinó el efecto de *Azospirillum* sobre parámetros biométricos (área foliar, número y tamaño de hoja, biomasa fresca y seca de planta). Además, su efecto sobre la calidad de fruto (color, tamaño, acidez titulable, pH y °Brix del fruto) y su rendimiento, fueron evaluados. Adicionalmente, se determinaron los contenidos nutrimentales (N, P., K) en fruto y hoja. La inoculación de plantas de fresa con *Azospirillum* sin adición de fertilizante (T2, T3, incrementó significativamente el área foliar, peso fresco y seco y el rendimiento de fruto, en un 26%, 28%, 37% y 125%, respectivamente, en comparación con las plantas no inoculadas y sin fertilizante (T7). La inoculación de AZ1

+FN 50% (T4), junto con los tratamientos en que se utilizó solamente 50 y 100% (T6 y T1), fueron estadísticamente iguales y se registraron en promedio 46% más área foliar, 56% biomasa fresca y 73% más biomasa seca frente a los consorcios (T2 y T3), cabe mencionar que los tratamientos inoculados tuvieron un efecto positivo sobre el rendimiento, en relación al FN 100% (T1). Los resultados mostraron que AZ1 +FN 50%, permitió el desarrollo de las plantas al mismo nivel que el tratamiento no inoculado con FN 100% y permitió superar significativamente su rendimiento. Adicionalmente, dicho tratamiento promovió la calidad de los frutos de fresa incrementando su tamaño (mayor a 60%) y °Brix, respecto a los frutos provenientes del tratamiento con FN 100%, lo que indica una respuesta favorable de la fresa variedad Albion a la inoculación con *Azospirillum* como complemento de la fertilización química nitrogenada.

Ki-Yoon Kim (2010), desarrolló una investigación sobre *Aislamiento y evaluación del efecto de la inoculación de Azospirillum sp.* en el crecimiento, colonización y nutrientes de los cultivos bajo condiciones de invernadero. En el estudio, se aislaron bacterias fijadoras de nitrógeno de la rizósfera de diferentes cultivos en Corea y se pusieron a prueba para su actividad de reducción de acetileno (ARA) (trece

aislamientos). Los aislamientos se clasificaron como *Azospirillum brasilense* y *Azospirillum lipoferum*, basado en el nivel de azúcar y el requisitos de la biotina. Resultados: *A. brasilense* fue dominante y *A. cepas brasilense* CW301 y CW903 mostraron la mayor ARA (actividad de reducción de acetileno) β -galactosidasa actividad verificada a través de plalac Z marcado que confirmó su capacidad para colonizar la raíz de trigo. Se hicieron nuevas investigaciones para verificar la eficiencia de *A. brasilense* CW903 para mejorar el crecimiento de los cultivos y la absorción de nutrientes de pimiento rojo, tomate y arroz bajo condiciones de invernadero. A excepción de las longitudes de raíz de la pimienta roja y la relación de arroz y raíz ramificación de tomate, la inoculación de *A. brasilense* CW903 mejoró significativamente otros parámetros de crecimiento ($p \leq 0.05$). A excepción de P, K, Mg y Zn en tomate, la inoculación de *A. brasilense* CW903 apreciablemente ha mejorado la acumulación de otros nutrientes en arroz y pimienta roja. La mejora constante en el crecimiento y captación de nutrientes en cultivos no hospedantes sugieren el potencial del *A. brasilense* CW903 para la aplicación de campo a gran escala.

De otro lado, se consignan también antecedentes de investigaciones, relacionados con el consorcio de *Azotobacter spp.* y *Azospirillum spp.*:

En Colombia, Carrillo K., Colmenares A., Ramírez L., Moreno L. y Cárdenas D. (2015) realizaron el estudio *Inoculación de Cilantro (Coriandrum sativum L.) Rizobacterias en Villa del Rosario, Norte de Santander*. Se evaluó el efecto de su inoculación en plantas de cilantro y la utilización de la práctica de quema de cascarilla de arroz en la preparación del suelo para el establecimiento del cultivo. Se empleó un diseño experimental en parcelas divididas donde, las parcelas principales correspondieron a la preparación del suelo con quema de cascarilla de arroz y sin quema con la inoculación previa de *Trichoderma* sp. Las subparcelas eran los tratamientos con la inoculación simple y en co-inoculación de *Azospirillum* Rzh132 y *Azotobacter* Rzh120 y los testigos absoluto y químico. Los hallazgos revelaron un efecto positivo en el crecimiento de las plantas inoculadas con las rizobacterias en las dos parcelas con quema y sin quema de cascarilla de arroz; sin embargo, en la variable rendimiento no se obtuvieron diferencias significativas ($P \leq 0,05$). Así mismo, se encontró que la población de bacterias rizosféricas en los medios de cultivo NFb semisólido, Ashby y King B, se vio favorecida por la no quema de cascarilla de arroz en el suelo. Es importante resaltar que los resultados se obtuvieron con la disminución al 30% de la fertilización química, con lo cual se puede reducir el uso de estos productos químicos.

En Irán, Aazadi M. (2014), realizó el estudio intitulado *Efecto del estudio de nitrógeno, Azotobacter spp. y Azospirillum en fases fenológicas y características morfológicas de los cultivares de trigo duro*. Este experimento se realizó en forma de factorial dividido en el diseño de bloques completos al azar de modelo en tres repeticiones. En este tipo de diseño tres de sémola y de trigo fueron plantados en las parcelas principales y tres niveles de 40, 80 y 120 kg nitrógeno neto en hectáreas que habían sido proporcionado de fuente de úrea y tres niveles de biofertilizante incluyendo *Azotobacter spp.* y *Azospirillum spp.* y sin usar biofertilizante (control) como factorial se cultivaron en parcelas secundarias. Conclusión: se observó un efecto positivo de los fertilizantes biológicos en los rasgos del crecimiento del trigo.

En Colombia, Vanegas J. (2012) investigó el *Desarrollo de consorcios de diazótrofos con actividad promotora de crecimiento en plantas de arroz inundado y seco en los departamentos del Tolima y Meta*. La actividad de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) se ha potenciado a través de mezclas bacterianas. Mediante enriquecimientos continuos en medios Nfb se obtuvieron tres consorcios no definidos con actividad promotora de crecimiento en arroz y se diseñaron mezclas bacterianas. Cinco mezclas bacterianas y 11 cepas

obtenidas de los consorcios no definidos permitieron promover el crecimiento en plantas de arroz. Igualmente, mediante los pases consecutivos en plantas, un consorcio no definido, dos mezclas y tres cepas provenientes del consorcio, promovieron el crecimiento en plantas de arroz. Bajo condiciones de invernadero, la respuesta a la inoculación dependió de las cepas evaluadas, la cultivariedad de arroz y el tipo de suelo empleado. Conclusión: se obtuvo consorcios no definidos, mezclas bacterianas y rizobacterias con actividad promotora de crecimiento en plantas de arroz sin la necesidad de realizar combinaciones entre PGPR.

En Colombia, Guzmán A., Obando M., Rivera D. y Bonilla R. (2012), realizaron un estudio sobre *Selección y caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) asociadas al cultivo de algodón (Gossypium hirsutum)*. Se aislaron bacterias diazotróficas de los géneros *Azotobacter* y *Azospirillum* a partir de la rizósfera de cultivos de algodón en el Espinal (Tolima). Las poblaciones microbianas se caracterizaron fenotípicamente en los medios de cultivo semiespecíficos: Ashby y LG (*Azotobacter* sp.) y NFb, LGI y Batata (*Azospirillum* sp.). La promoción de crecimiento vegetal se determinó mediante la actividad de la enzima nitrogenasa por medio de la técnica de reducción de acetileno y producción de índoles por el método

colorimétrico de Salkowsky. Se obtuvieron 9 aislamientos tentativos de *Azotobacter* sp. y 4 de *Azospirillum* sp. Se presentaron diferencias significativas en la prueba de reducción de acetileno con las cepas presuntivas de *Azotobacter* sp.: NAT 9 (206,43 nmol C₂H₂ mL⁻¹.h⁻¹), NAT 4, (292.77 nmol C₂H₂ mL⁻¹.h⁻¹), y NAT 6 (460.60 nmol C₂H₂ mL⁻¹.h⁻¹) y en la producción de índoles de las cepas NAT 19 (19,87 µg.mL⁻¹) y NAT 13 (20,08 µg.mL⁻¹). Por su eficiencia *in vitro* en la promoción de crecimiento vegetal se seleccionaron las cepas NAT9, NAT4, NAT6, NAT19 y NAT13 para ser evaluadas como principio activo en futuros inoculantes para el algodón en esta zona del departamento del Tolima.

En Colombia, Borda D., Pardo J., Montaña J. y Martínez M. (2011), evaluaron en *Stevia rebaudiana*, el efecto de la materia orgánica y un biofertilizante con base en *Azotobacter nigricans*. La inoculación de éste produjo un incremento en la velocidad de mineralización del compost, con %CO final de 4,85 entre los 90 y 180 días. Se presentaron diferencias estadísticamente significativas (p< 0,05) entre la producción de biomasa de T2 (1538 kg ha⁻¹) y el control (477 kg ha⁻¹). Respecto al contenido de sólidos solubles T1, T3 y T4 presentaron los más altos valores de °Brix (12,4: 12,35 y 12,15). Concluyeron que la concentración 30 ton ha⁻¹ presentó los mejores rendimientos de biomasa y la aplicación del

biofertilizante mostró una correlación positiva con la mineralización del compost y síntesis de glucósidos.

En Colombia, Rodríguez E., Bolaños M., Menjivar J. (2010), evaluaron el *Efecto de las fertilizaciones química y orgánica y biofertilización en la nutrición y rendimiento del ají (Capsicum spp.)* en el *Valle del Cauca, Colombia*, y en la producción de plántulas en vivero y en campo. Las variables evaluadas en vivero fueron: peso fresco de raíz y parte aérea, número de hojas, altura de la planta (cm), diámetro del tallo (mm), peso seco total, peso seco de raíz y parte aérea. Se evaluaron seis tratamientos, bajo un diseño estadístico de bloques completos al azar, de la forma siguiente: fertilización de síntesis química completa (testigo) (FSQC), FSQC más fertilización orgánica (FSQC + O), FSQC + O más biofertilización 1 (solubilizador de fósforo con base en *Penicillium janthinellum* (1x10⁷ conidias/ml), FSQC + O más micorrizas (FSQC + O + M), FSQC + O más biofertilización 2 (fijador de nitrógeno con base en *Azotobacter chroococcum* (1x10⁸ UFC/ml) y *Azospirillum* sp. (1x10⁸ UFC/ml), FSQC + O más biofertilización 3 (fijador de nitrógeno con base en *Azotobacter chroococcum* (1x10⁸ UFC/ml). El experimento se instaló sobre un Typic Hapludolls. El análisis de resultados mostró que, en todos los tratamientos la fertilización de síntesis química + orgánica + micorrizas

presentó los mejores resultados ($P < 0,01$), seguido de los tratamientos a los que se aplicó la fuente de biofertilización (microorganismos solubilizadores de fósforo y fijadores de nitrógeno). Para los suelos estudiados se concluyó que el mayor rendimiento de ají se consigue cuando se aplica al suelo una fuente química completa, más una fuente de materia orgánica, más micorrizas arbusculares.

En la India, Sridevi S. y Ramakrishan K. (2010), estudiaron el *Efecto de la inoculación combinada de hongos y Azospirillum en el crecimiento y rendimiento de la cebolla*. El objetivo se centró en evaluar los efectos de la AM hongos (micorrizas arbusculares) y *Azospirillum* en la cebolla (*Allium cepa* L.), encontrándose un mejoramiento del crecimiento y rendimiento de la cebolla comparativamente con el control no tratado.

2.2. Base teórica

2.2.1. Cebolla : filogenia e historia evolutiva

La cebolla común recibe el nombre binomial de *Allium cepa* L., la cual es la especie más consumida del género *Allium*, que contiene alrededor de 1250 especies, entre las que destacan los ajos, puerros, cebolletas, entre otras. Es una “planta anual para la producción del bulbo y bianual para la producción de semillas. Persiste vegetativamente por medio de bulbos o sexualmente a través de semilla” (Vallejo y Estrada, 2004,149). El género se encuentra comprendido dentro de la familia taxonómica *Amaryllidaceae*, del orden *Asparagales* (La Guía, 2014).

2.2.2. Clasificación taxonómica

Reino:	Vegetal
División:	Fanerógamas
Subdivisión:	Angiospermas
Clase:	Monocotiledónea
Orden:	Liliflorinea
Familia:	Liliáceas
Género:	<i>Allium</i>
Especie:	<i>Allium cepa</i> L. var. Amarilla

2.2.3. Variedades botánicas

Las formas hortícolas de *Allium cepa* L. se ubican en tres grupos de variedades botánicas (Vallejo y Estrada, 2004, 146):

a. Grupo *typicum*: *Allium cepa* var. *cepa*:

Grupo de cebollas comunes, bulbos simples, grandes, inflorescencias típicamente sin bulbitos, plantas casi siempre originarias de semilla botánica. En este grupo están todas las cebollas comercialmente importantes. Muestran una extrema variación en el color y forma de los bulbos y responde a la temperatura y fotoperiodo. El número cromosómico de los tipos cultivados es de $2m=16$ cromosomas.

b. Grupo *aggregatum*: *Allium cepa* var. *Aggregatum*:

Grupo de las cebollas con bulbos compuestos, inflorescencia típicamente sin bulbitos, puede producir semillas o ser estéril. Multiplicación casi exclusivamente vegetativa. Este grupo se caracteriza por la presencia de muchos bulbos laterales y que son usados por la propagación. Posee tres formas distintas: cebolla papa, cebolla siempre lista y cebolla chalote.

c. Grupo proliferum: *Allium cepa* var. Proliferum:

Los bulbos son pobremente desarrollados. La inflorescencia está cargada de bulbitos y usualmente sin semillas botánicas, reproduciéndose vegetativamente por bulbitos que se originan en la inflorescencia.

2.2.4. Características morfológicas

- **Sistema radicular:** la cebolla es una planta que tiene un sistema radicular muy superficial (45 cm) y extendido y su mayor volumen de raíces se ubica en los primeros 30 cm del suelo. De la parte de debajo de la placa basal o tallo se forman raíces adventicias y más adelante en el desarrollo de la planta se forman raíces a los lados de la placa basal. Cabe mencionar, que debido a que la cebolla tiene solo una raíz primaria, el desarrollo de la planta depende de la formación de raíces adventicias.

- **Germinación:** en semilla recién cosechada, se ha detectado una proporción baja de semillas que no germinan. Pero tal efecto de dormancia desaparece en unos dos meses. Asimismo, se ha observado que semilla inmadura, con un 64 % de humedad. Cabe precisar, que el acondicionamiento de la semilla mediante el

tratamiento en solución con presión osmótica de 10 bares, por 10 días, permite su germinación más uniforme y rápida en condiciones de temperaturas bajas (FINTRAC IDEA, 2012).

- **Bulbo:** está formado por numerosas capas gruesas y carnosas al interior, que realizan las funciones de reserva de sustancias nutritivas necesarias para la alimentación de los brotes y están recubiertas de membranas secas, delgadas y transparentes, que son base de las hojas. La sección longitudinal muestra un eje caulinar llamado corma, siendo cónico y provisto en la base de raíces fasciculadas. La formación del bulbo está influenciada por varios factores, pero el más importante es el fotoperiodo o largo del día. Las *condiciones de días largos* estimulan la formación del bulbo, pero hay diferencias de respuesta entre los cultivares. La *temperatura* es otro factor que influye en la formación del bulbo. Los niveles de 25° y 30° aceleran el proceso, si el fotoperiodo es el apropiado, en cambio se produce un retraso progresivo a medida que baja la temperatura. Los *altos niveles de nitrógeno y de riego* retrasan la maduración del bulbo (FINTRAC IDEA, 2012). En cuanto al *peso del bulbo*, es un carácter de herencia poligénica, es así, que dependiendo de las poblaciones y del ambiente, se han encontrado coeficientes de heredabilidad comprendidas entre 0,12 y 0,39. “El formato del bulbo puede ser descrito como la relación

altura/diámetro del bulbo, siendo 1 para bulbos de formato redondo y próxima a 0,5 para bulbos achatados. La herencia es poligénica y la heredabilidad fluctúa entre 0,32 y 0,67” (Vallejo y Estrada, 2004, 157).

- **Tallo:** el tallo es un disco delgado del cual nacen las raíces y las hojas de las plantas, permanece con esta forma en la primera temporada, pero en la segunda se alarga hasta 1,5 m de altura y en su extremo se forman las flores en una inflorescencia llamada umbela (FINTRAC IDEA, 2012).
- **Hoja:** envainadoras, alargadas, fistulosas y puntiagudas en su parte libre (Cerna, Kline y Ramirez, 1993).
- **Biología floral:** la cebolla presenta *dicogamia* (protandria). Las anteras emiten casi todo el polen durante un periodo de 9-17 horas, 26 a 36 horas antes de que el estigma sea receptivo. Además del fenómeno de la protandria, el polen de la planta extraña se desarrolla más rápidamente que el polen de la propia planta . Estos factores asociados hacen que la cebolla sea una planta alógama. Una umbela puede estar en florecimiento durante una semana, pero toda la planta puede florecer durante 30 días. Con frecuencia la fecundación se hace entre

flores de la misma umbela y es hecha principalmente a través de insectos polinizadores (Vallejo y Estrada, 2004).

2.2.5. Ciclo fenológico

- **Aparición de hojas:** cuando después del trasplante las plántulas comienzan a brotar nuevas hojas de forma tubular que pueden variar entre 12 a 16 horas dependiendo de la variedad (Perú –Ministerio de Agricultura, 2015).
- **Formación de bulbo:** se inicia cuando cesa la aparición de nuevas hojas y empieza la acumulación de reservas en el bulbo, el mismo que comienza a engrosar los catáfilos (Perú –Ministerio de Agricultura, 2015).
- **Maduración inicial:** en esta fase las hojas empiezan a doblarse y el cultivo en general comienza a amarillear (Perú –Ministerio de Agricultura, 2015).
- **Maduración completa:** los bulbos están desprovistos totalmente de sus hojas y listos para comercializar (Perú –Ministerio de Agricultura, 2015).

2.2.6. Condiciones agroecológicas

a. Factores que afectan la producción de bulbos :

– Fotoperiodo

Fisiológicamente la cebolla es una planta de días largos para la formación de bulbos. La bulbificación ocurre cuando la duración del día es igual o superior a un mínimo crítico. Es así que los cultivares de cebolla de acuerdo al fotoperiodo crítico, pueden ser clasificados en:

- Cultivares de días cortos: exigen 11-12 horas de luz.
- Cultivares de días intermedios: exigen 13-14 horas de luz.
- Cultivares de días largos: exigen más de 14 horas de luz.

Se estima que cuando un cultivar de días intermedios es sembrado en una región con fotoperiodo menor que el nivel crítico del cultivar, no se forman bulbos en su totalidad y se presenta desuniformidad en la maduración. Cuando un cultivar de días cortos es sembrado en regiones con fotoperiodo mayor que el nivel crítico, la bulbificación es prematura y el tamaño de los bulbos es reducido (Vallejo y Estrada, 2004).

– **Temperatura**

Los rangos de temperaturas donde mejor crece el cultivo de cebolla, están entre los 12,8° C y 24° C. El mejor crecimiento y calidad se obtiene si la temperatura es fresca durante el desarrollo vegetativo (desde la germinación hasta el inicio de formación de bulbos) prefiriéndose que en tal etapa las temperaturas no superen los 24° C. Posteriormente, éstas deben ser más altas para favorecer el crecimiento y desarrollo del bulbo; aunque, si se va a comercializar la cebolla con tallo verde y bulbo no muy desarrollado, este factor no tiene mucha importancia.

Las cebollas dulces necesitan noches frescas con temperaturas de 10 - 15 °C y días calientes con temperaturas de más de 26,7° C, para poder alcanzar altos niveles de azúcares en el bulbo (Perú –Ministerio de Agricultura, 2015).

– **Nutrición mineral**

Altos niveles de nitrógeno retardan la formación del bulbo. Sin embargo, deficiencias de este elemento pueden acelerar la maduración de bulbos y reducir su tamaño.

– **Suministro de agua**

El “exceso de irrigación puede ocasionar el retraso en la formación del bulbo, hasta en 20 días o más, en relación al ciclo normal del cultivo (Vallejo y Estrada, 2004,149). Las necesidades de riego en la cebolla, así como en muchas especies agrícolas han de ir marcadas por la evapotranspiración (ET_o) de cada zona y por los coeficientes de cultivo de cada época del año (K_c) y de reducción (K_r), que tienen en cuenta la densidad de plantación y número de árboles (Etc.=ET_o x K_c x K_r) (Perú –Ministerio de Agricultura, 2015).

– **Daños a la planta**

En caso de defoliaciones severas, la formación del bulbo presenta retardo, inhibición o reducción del tamaño.

b. Factores que afectan la fase reproductiva

El factor responsable del florecimiento del bulbo o de la planta de la cebolla es la temperatura, ya que para pasar de la fase vegetativa a la reproductiva se necesita de la diferenciación del meristemo en yemas florales. Este paso es generalmente inducido por temperaturas entre 4 y 15° C por periodos variables, 20 -60 días, dependiendo de la variedad (Vallejo y Estrada, 150).

2.2.7. Género *Azospirillum* sp.

- **Posición taxonómica de *Azospirillum* sp.**

La clasificación del Género *Azospirillum* sp (Bergey, 1923) según sus características morfológicas y fisiológicas:

Reino:	Procariota
Phylum:	Proteobacteria
Clase:	Alpha Proteobacteria
Orden:	Rhodospirillales
Familia:	Rhodospirillaceae
Género:	<i>Azospirillum</i>
Especie:	<i>Azospirillum</i> sp.

- **Generalidades del Género *Azospirillum***

Cabe precisar que aun cuando *Spirillum lipoferum* fue descrito en 1925 por Beijerinck, esta bacteria estuvo olvidada por varias décadas. Son las observaciones de Peña-Cabriales y Döbereiner en 1973 las que iniciarían la época moderna de esta bacteria. Estudios taxonómicos de *S. lipoferum* conducen a su reclasificación en un género nuevo: *Azospirillum* (Caballero,s/f). La primera especie de *Azospirillum* se aisló en Holanda por Beijerinck (1925) a partir de suelos arenosos pobres en nitrógeno, y originalmente se llamó

Spirillum lipoferum. Más adelante, la bacteria se aisló de suelo adherido a pastos marinos secos en Indonesia (Schroder, 1932; H.C. Derx, sin publicar, 1949, citado por Bashan , Holguín, Glick y Bashan, 2007).

Constituyen un grupo de microorganismos que incluyen bacterias de vida libre, presentes en suelos de todo el mundo (se distribuyen en regiones templadas y tropicales) y con capacidad de fijar nitrógeno molecular del medio ambiente (Okon y Labandera , 1994). Presenta una morfología vibroide, pleomorfismo y movimiento en espiral. Asimismo, posee un flagelo polar y corresponde a bacterias.

El género *Azospirillum* sp. está conformado por bacterias Gram negativas a Gram variables (Tarrand, Krieg y Dobereiner, 1994) que poseen un movimiento vibratorio característico en forma de espiral, son heterotróficas, de vida libre y fijan nitrógeno. Se han descrito 10 especies: *A. brasilense*, *A. lipoferum*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans*, *A. irakense*, *A. largimobil*, *A. dobereinerae*, *A. orizae*, *A. melinis* y *A. canadense* ; las que se han aislado de la rizósfera o del interior de la planta (endofíticas) de diferentes monocotiledóneas o dicotiledóneas, en diferentes regiones del planeta con climas templados y tropicales. Según Aguilar, Xiqui, García y Baca (2008)

es considerada una bacteria promotora de crecimiento vegetal (BPCV), por el beneficio obtenido posterior a la inoculación de la bacteria, en una variedad de plantas como el maíz, arroz, caña y otras de interés agronómico.

Cabe citar entre los beneficios que tributa la inoculación de *Azospirillum* en la planta, los siguientes:

- a) Fijación biológica del nitrógeno.
- b) Inducción del incremento en el área superficial de la raíz.
- c) Mejora del rendimiento.
- d) Confieren tolerancia a estrés.
- e) Solubilización del fósforo insoluble.

- **Importancia de *Azospirillum* sp.**

Las especies microbianas del género *Azospirillum* sp., favorecen el crecimiento de la planta , ya que estimulan la densidad y longitud de los pelos radiculares , así como el crecimiento de las raíces secundarias y la superficie radicular, lo cual ha sido vinculado con el metabolismo del nitrógeno (en condiciones de microaerofilia que lo asimila como amonio) a través de la fijación biológica en condiciones de vida libre o por el incremento de la actividad nitrato reductasa en condiciones endofíticas, con relación al metabolismo del nitrógeno.

La intensidad de estos efectos sobre la raíz depende de la especie vegetal y del cultivar empleado y sobre todo de la concentración de *Azospirillum* sp. en el medio. En la mayoría de los casos la concentración óptima es de 10⁸ UFC por semilla o plántula. Este microorganismo influye en la concentración de ácido indol acético y ácido indol-3-butírico así como en la velocidad de la respiración específica y en la actividad de enzimas relacionada con el ciclo de ácidos tricarbónicos y también en la ruta de la glicólisis en las raíces de maíz y de otras plantas (Palazón, 2015).

2.2.8. Azotobacter

- Posición taxonómica de *Azotobacter* sp (Bergey, Harrison, Breed, Huntoon , 1923)

Reino	:	Procariota
Grupo	:	Protista
Clase	:	Gammaproteobacteria
Orden	:	Pseudomonadales
Familia	:	Pseudomonadaceae
Género	:	<i>Azotobacter</i>
Especie:		<i>Azotobacter</i> sp.

- **Generalidades del género *Azotobacter***

La familia Azotobacteriaceae comprende bacterias del género *Azotobacter*, las cuales son Eubacterias Gram-negativas, con una pared celular compleja que consiste en una membrana externa y una capa interna de peptidoglicano que contiene ácido murámico y mureína. Son pleomórficas y varían su morfología desde bacilos hasta células en forma de cocos. Son quimioorganotróficas, utilizan azúcares, alcoholes y sales inorgánicas para crecer. Son fijadores de nitrógeno, en vida libre fijan al menos 10 mg de N₂ por gramo de carbohidrato (glucosa) consumido. Requieren molibdeno para fijar nitrógeno que puede ser parcialmente reemplazado por vanadio y hacen uso de nitrato y sales de amonio y ciertos aminoácidos como fuentes de nitrógeno. Son catalasa positivos. El rango de pH en el que crecen en presencia de nitrógeno combinado es 4,8 - 8,5 el pH óptimo para crecer cuando fijan nitrógeno es 7,0 - 7,5 (Espín, 2013; Saribay, 2003).

Según Aquilanti (2004) el *Azotobacter* sp, es una de las bacterias mas aerotolerantes, ya que se adaptan a altas concentraciones de oxígeno, ya sea por protección respiratoria o también por protección conformacional, dada por la formación de un complejo inactivo, pero estable al oxígeno.

- **Fijación de nitrógeno**

La fijación biológica de nitrógeno o reducción de N_2 a NH_4 , es un proceso que pueden llevar a cabo solo algunos procariotes, gracias a que poseen el complejo enzimático conocido como *nitrogenasa*, la cual está formada por dos proteínas: una proteína que contiene hierro (proteína-Fe) y otra que contiene molibdeno y hierro (proteína Mo-Fe). La nitrogenasa que contiene molibdeno (Mo) es la más ampliamente distribuida (Gutiérrez y Rodríguez, 2013).

En el caso del *Azotobacter*, tiene una amplia gama de enzimas necesarias para llevar a cabo la fijación del nitrógeno: ferredoxina, hidrogenasa y una importante enzima nitrogenasa. El proceso de fijación de nitrógeno requiere un influjo de energía en la forma de trifosfato de adenosina (ATP). La fijación de nitrógeno es muy sensible a la presencia de oxígeno, y por lo tanto, el *Azotobacter* ha desarrollado un mecanismo especial de defensa contra el oxígeno, a saber, una intensificación significativa del metabolismo que reduce la concentración de oxígeno en las células. La nitrogenasa es la enzima más importante implicada en la fijación de nitrógeno. Especies de *Azotobacter* tienen varios tipos de nitrogenasa: el básico es el

molibdeno-hierro nitrogenasa; un tipo alternativo contiene vanadio, es independiente de los iones de molibdeno y es más activa que la nitrogenasa de Mo-Fe a bajas temperaturas. Por lo tanto, pueden fijar el nitrógeno a temperaturas tan bajas como 5°C y su actividad a baja temperatura es 10 veces mayor que la de Mo-Fe nitrogenasa.

Es importante anotar, que el *Azotobacter* también sintetiza fitohormonas, como las auxinas, las que estimulan el crecimiento de las plantas, además de movilizar los metales pesados en el suelo, por lo que también contribuyen a la biorremediación del suelo en el caso del cadmio, mercurio y plomo.

En la agricultura, el crecimiento de las especies vegetales está determinado de forma directa o indirecta por la disponibilidad de nutrientes minerales, en especial del nitrógeno, toda vez, que cuando se cubren las necesidades de agua, el factor limitante más importante es el nitrógeno. Una planta con deficiencia de nitrógeno sufriría clorosis, manifestando una coloración amarillenta de tallos y hojas, falta de desarrollo y debilidad. Por el contrario, cuando la planta tiene suficiente nitrógeno, sus hojas y tallos crecen rápidamente. En agricultura el nitrógeno es el principal nutriente para el crecimiento de

las plantas y, así, en suelos carentes de nitrógeno los rendimientos de los cultivos son bajos (Calvo, 2011).

En este sentido, el empleo de bacterias fijadoras de nitrógeno representa una gran oportunidad para la agricultura, ya que el nitrógeno fijado en el suelo por las bacterias se encuentra disponible directamente justo en el lugar (rizósfera) donde es requerido, mientras que los fertilizantes inorgánicos aplicados al suelo sufren una pérdida de hasta el 50% debido a procesos naturales de lixiviación y desnitrificación. Además, la excesiva lixiviación de los fertilizantes inorgánicos puede dar lugar a la contaminación de las aguas subterráneas, ríos y lagos causando daños ecológicos, y constituyen un riesgo para la salud animal y humana (Investigación y Desarrollo Agroalimentario, 2015).

2.2.9. Fitohormonas

– Definición

Las fitohormonas son compuestos responsables de los patrones de expresión génica de diversos eventos de crecimiento y desarrollo, participan en la regulación de múltiples procesos fisiológicos como la germinación de semillas, el enraizamiento, los movimientos trópicos, la

tolerancia a diferentes tipos de estrés bióticos y abióticos, la etapa de floración, la maduración de frutos y la senescencia, entre otros (McCourt ,1999).

Son compuestos naturales que se forman en tejidos vegetales y que regulan un proceso a concentraciones muy bajas, además que pueden ejercer su efecto en el sitio de producción o en otros sitios. El ácido giberélico es la principal fitohormona que se utiliza como biorregulador en el sector agrícola (Andrade, 1996).

A diferencia de las hormonas animales, las fitohormonas se producen en las células de la planta, sin formar glándulas y se definen como compuestos orgánicos que se sintetizan en una parte de la planta y se trasladan a otro sitio donde ejercen su acción fisiológica en muy bajas concentraciones, entre 10^{-9} M a 10^{-6} M, muy por debajo de la concentración de otros compuestos como nutrientes y vitaminas (Izumi et ál. ,2009).

Según Srivastava y Ahamad (2003), las fitohormonas participan en diferentes respuestas morfogénicas y de crecimiento de manera pleotrópica, ya que una misma hormona participa en diferentes

procesos y además, según su concentración una misma hormona, puede ser estimuladora o inhibitoria de una misma respuesta. Asimismo, cada respuesta ocurre en un tiempo determinado en el desarrollo de una planta y se presenta solamente en un tejido específico u órgano.

Las hormonas vegetales más relevantes son cinco: las auxinas, el etileno, las giberelinas (GAs), las citoquininas y el ácido abscísico (ABA) (Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología, 2013):

- **Giberelinas (GAs)**

Son un conjunto de compuestos químicos naturales con actividad reguladora del crecimiento y desarrollo de las plantas. Las GAs controlan diversos procesos del desarrollo de las plantas como la germinación de las semillas, la dormición y la movilización de las reservas del endospermo (Taiz y Zeiger,2006), la elongación del tallo , la expansión de las hojas, el desarrollo de los tricomas, la floración y la liberación de enzimas hidrolíticas en algunos tejidos (Ueguchi-Tanaka , Nakajima , Motoyuki , Matsuoka , 2007) . Únicamente las giberelinas biológicamente activas pueden cumplir con estas funciones, las giberelinas no bioactivas existen en el tejido vegetal como precursores de las formas bioactivas o

como metabolitos desactivados. Se ha dilucidado que existe una necesidad estructural como requerimiento para la afinidad con el recientemente descubierto receptor de giberelinas en arroz (GID1) y sus homólogos en otras especies (Nakajima, Shimada A., Takashi , Kim , Park , Ueguchi –Tanaka , Susuky, Katoh , Iuchi , Kobayashi , Maeda , Matsuoka , Yamaguchi , 2006). Parece ser que la regulación de la biosíntesis de giberelinas y de sus receptores y vías de señalización dependen de la especie de estudio (Yamaguchi, 2008). Los niveles de las GAs activas (GA₁ y GA₄) están regulados por enzimas de biosíntesis como los GA 20 –oxidasas (GA 20 ox) y GA 3-oxidasas (GA3ox) y por enzimas de catabolismo GA 2-oxidasas (GA2ox) (Gallego,2008,19).

- **Etileno**

El Etileno es la única hormona vegetal gaseosa, simple y pequeña, presente en angiospermas y gimnospermas aunque también en bacterias y hongos, además de musgos, hepáticas, helechos y otros organismos. Siendo un gas puede moverse rápidamente por los tejidos, no tanto por transporte sino por difusión. Su efecto además se inicia con cantidades mínimas, las cuales ya provocan respuestas (Jordán y Casaretto, 2006).

Su biosíntesis se incrementa en plantas sometidas a estrés y se asocia con procesos de senescencia y maduración. Dentro de sus

funciones fisiológicas más investigadas, se encuentran las relacionadas con la abscisión de hojas, marchitamiento de flores, maduración de frutos y otros procesos relacionados con el envejecimiento, pues se plantea su participación en la degradación de clorofila y peroxidación de lípidos de membranas. También favorece la epinastia de hojas, la germinación de semillas, pone fin a la dormancia de brotes y promueve la síntesis de enzimas relacionadas con defensa a patógenos, daños mecánicos o en situaciones de estrés, entre otros (Santner y Estelle 2009).

- **Citoquininas**

Las citoquininas son consideradas responsables de los procesos de división celular, entre los que se encuentran la formación y crecimiento de brotes axilares, la germinación de semillas, la maduración de cloroplastos, la diferenciación celular y también el control de varios procesos vegetales como el retardo de la senescencia y en la transducción de señales (Sakakibara,2006). Se cree que las citoquininas son sintetizadas en tejidos jóvenes o meristemáticos como ápices radiculares, yemas del tallo, nódulos de raíces de leguminosas, semillas en germinación, especialmente en endospermas líquidos y frutos jóvenes; desde donde se transportan vía xilema hacia la hoja donde se acumula, para luego ser

exportada vía floema hacia otros órganos como los frutos (Srivastava, 2002).

- **Ácido Abscísico**

El ácido abscísico (ABA) es un sesquiterpenoide, particularmente importante en la respuesta a estrés y desempeña un papel relevante en procesos fisiológicos, cuyos efectos varían dependiendo del tejido y estado de desarrollo de la planta. Entre sus múltiples funciones, se incluye la inducción de síntesis de proteínas LEA (*Late Embriogenesis Abundant*), con lo cual se promueve la tolerancia del embrión a la deshidratación y acumulación de proteínas de almacenamiento. Además, se le atribuye el mantenimiento de la dormancia de semillas; en hipocótilos, epicótilos y coleótilos inhibe el crecimiento y elongación; y en hojas promueve su senescencia (Finkelstein, Reeves, Ariizumi y Steber, 2008). Cumple un papel importante en la regulación de las relaciones hídricas, por su relación determinante en la respuesta de las células guarda estomáticas y en el mantenimiento del crecimiento radical durante el déficit hídrico, lo cual se encuentra ampliamente estudiado y documentado en la actualidad (Kim y Wang, 2010).

- **Auxinas**

El vocablo auxina se deriva del griego *auxein*, que significa aumento o incremento y designa cualquier compuesto constituido por el grupo auxínico. Según Rojas y Ramirez (1993) existen tres grupos auxínicos:

- a) Derivados del indol como ácido indol propiónico (IPA), ácido indol butírico (IBA) y el ácido 3-indol acético (AIA).
- b) Derivados del naftaleno, como ácido naftalen acético (NAA), ácido naftoxiacético (Noxa o BNOA), ácido naftilpropiónico (NPA).
- c) Derivados fenoxi, usados como herbicidas selectivos y algunas veces como reguladores del crecimiento vegetal.

Las auxinas se “distribuyen diferencialmente dentro de los tejidos [de las plantas] lo que da lugar a diferentes procesos morfogenéticos” (Garay, De la Paz, García, Álvarez y Gutiérrez, 2014,13). Induce la organogénesis e influye sobre la arquitectura de la planta, en la generación y el mantenimiento de los primeros meristemas axilares, así como en la división inicial del cigoto (Weijers y Jurgens, 2005). Durante la embriogénesis interviene en la formación de las células en meristemas radiculares, conectividad vascular y en general, en el desarrollo de todos los órganos. En las plantas maduras, la auxina activa la proliferación celular necesaria para promover el desarrollo del tejido vascular y la generación de órganos laterales, así como en la regulación de la polaridad

de los órganos. También está implicada en el desarrollo foliar, el floral, en la asimetría, en la dominancia apical, en la expansión de la pared celular y en el desarrollo del sistema radicular (Pekker, Alvarez y Eshed ,2005).

2.3. Definición de términos

Bacteria: o procariotas, “son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria (división simple)[...] y se dividen en eubacterias y arqueobacterias (Pírez, 2011,1).

Biofertilizante: preparados que contienen células vivas o latentes de cepas microbianas eficientes fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fósforo o potencializadoras de diversos nutrientes, que se utilizan para aplicar a las semillas o al suelo con el objetivo de incrementar el número de estos microorganismos en el medio y acelerar los procesos microbianos de tal forma que se aumenten las cantidades de nutrientes que pueden ser asimilados por las plantas o se hagan más rápidos los procesos fisiológicos que influyen sobre el desarrollo y el rendimiento de los cultivos (Dibut ,2009,10).

Diazótrofo: organismo capaz de crecer sin fuentes externas de nitrógeno fijado (Postgate, 1998; Rodríguez, 1984).

Fitohormona: compuesto orgánico sintetizado en una parte de la planta y que transloca a otra parte donde, a muy bajas concentraciones, elicitada una respuesta fisiológica (Universidad Politécnica de Valencia, 2013).

Nitrógeno: masa atómica, 14,008; número atómico, 7; densidad, 1,2506; punto de ebullición, -195,8 °C; punto de fusión, -209,86 °C; símbolo N₂. El nitrógeno es un elemento químico no metálico, que en condiciones normales aparece como un gas diatómico, incoloro e inodoro. El nitrógeno molecular está ampliamente distribuido en la naturaleza en forma sólida, disuelta y gaseosa (Calvo, 2011,174).

Rizósfera: interacción existente entre bacterias y raíces de plantas leguminosas (Dibut ,2009,8).

Rizobacteria : tipo de bacteria que coloniza las raíces de algunas plantas en una relación simbiótica beneficiosa para ambas partes (mutualismo), siendo de interés para la agricultura aquellas fijadoras de nitrógeno, como las *Azospirillum* y las *Bradyrhizobium* (INTA, 2011).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3. 1. Tipo de investigación.

La presente investigación fue de tipo experimental , ya que según Hernández, Fernández y Baptista (2006,73) “ se manipulan deliberadamente una o más variables independientes (supuestas causas) para analizar las consecuencias de esa manipulación sobre una o más variables dependientes (supuestos efectos) dentro de una situación de control para el investigador” . Según Montgomery (2004,p.1) “es una prueba o serie de pruebas en las que se hacen cambios deliberados en las variables de entrada de un proceso o sistema para observar e identificar las razones de los cambios que pudieran observarse en la respuesta de salida”.

3.2. Diseño de la investigación.

El diseño experimental utilizado fue el de cuatro bloques completos aleatorios con 4 tratamientos y 4 repeticiones y con un total de 400 unidades experimentales.

Tratamientos:

T₁: *Azotobacter* sp.

T₂: *Azospirillum* sp.

T₃: *Azotobacter* sp. + *Azospirillum* sp.

T₀: Testigo

3.3. Población y muestra.

- **Población.**

La población estuvo constituida por plántulas de *Allium cepa* L. var. amarilla del Fundo Los Pichones de la Facultad de Agronomía de la UNJBG, con una extensión de 360 m².

- **Muestra.**

La muestra estuvo constituida por 400 plántulas de cebolla.

3.4. Variables de experimentación:

Variables independientes (VI):

Azotobacter sp.

Azospirillum sp.

Azotobacter sp. + *Azospirillum* sp.

Variables dependientes (VD): Uniformidad de crecimiento y desarrollo de *Allium cepa* L.

- Tamaño de hojas
- Calibre largo y ancho del bulbo

Indicadores de desarrollo del *Allium cepa* L.

- Rendimiento (kilogramos por hectárea)

3.5. Lugar de experimentación.

El lugar de experimentación fue el campo experimental del Fundo Los Pichones de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

- **Ubicación política**

Departamento: Tacna.
Provincia: Tacna.
Distrito: Gregorio Albarracín Lanchipa.
Lugar: Fundo Los Pichones

- **Ubicación geográfica**

Latitud: 18° 01' 36"
Longitud: 70° 15' 24"
Altitud: 560 m. s. n. m.

Fuente: según el SENAMHI- Tacna y Moquegua.

- **Fase de campo** : diseño en suelo de experimentación.

T ₁
T ₂
T ₃
T ₄
Área libre
T ₂
T ₁
T ₄
T ₃
Área libre
T ₃
T ₂
T ₄
T ₁
Área libre
T ₂
T ₄
T ₁
T ₃

A. Campo experimental:

Largo : 24 m

Ancho : 18 m

Área total : 360 m²

Separación entre unidad experimental: 1m

B. características de la unidad experimental

Largo	:	5 m
Ancho	:	1,5 m
Área total	:	7,5 m ²
Distanciamiento entre plantas	:	0,20
Distanciamiento entre líneas	:	1,5 m

3.6. Procedimiento (fase de laboratorio y de campo)

- **Fase de campo**

- a) **Toma de muestra de suelo para aislar *Azotobacter* sp.**

Se seleccionaron ocho puntos para la toma de muestra de suelo en monocotiledóneas y dicotiledóneas. En cada punto, con la ayuda de una pala de jardinería, se realizó la excavación de 25 a 30 centímetros de profundidad y se extrajo cuidadosamente la muestra de suelo de aproximadamente 1000 gramos, la que se colocó en una bolsa de papel café (de primer uso). El horario de recolección de las muestras, fue de 6 a 8 de la mañana. La evaluación de la calidad de las muestras, se realizó inmediatamente en el Laboratorio de Micología de la Facultad de Ciencias de la UNJBG.

- **Fase de laboratorio *Azotobacter* sp.**

b) Aislamiento de *Azotobacter* sp. en la muestra de suelo

Se siguió el siguiente procedimiento:

- El aislamiento se realizó con la ayuda de un asa bacteriológica tamaño estándar esterilizado mediante un proceso de incineración.
- Se tomó una azada de la muestra de suelo contenida en la bolsa de papel *kruff* (cuatro repeticiones).
- Se sembró por método directo en cuatro campos en placas Petri con medio de cultivo *Ashby*;
- Se procedió a incubar a una temperatura de 26°C durante 4 a 6 días.
- Se observó el crecimiento de las colonias grandes de *Azotobacter* sp., mucosas, incoloras y cremosas (Anexo N° 2).

c) Repicado de colonias

El proceso seguido para el repicado consistió:

- Las colonias que habían crecido sobre la superficie del medio de cultivo agar *Ashby*, fueron resembradas en otra placa *Petri* nueva con el mismo medio de cultivo.
- El método de repicado de colonias fue por agotamiento.
- Las colonias repicadas, fueron incubadas nuevamente a una temperatura de 26°C durante 2 a 3 días.

- Se aislaron cepas puras en placas Petri con agar Ashby.
- Se procedió a analizar y determinar sus características culturales, a fin de autenticar su género (Anexo N° 2).

d) Identificación de cepas de *Azotobacter* sp.

- **Prueba de la temperatura**

Se siguió el siguiente protocolo para comprobar la temperatura de crecimiento de *Azotobacter* sp.:

- Los cultivos de *Azotobacter* sp. aislados se sembraron por triplicado en placas que contenían el medio Ashby.
- El primer cultivo de *Azotobacter* sp., se sometió a una temperatura de 2 °C; el segundo cultivo a una temperatura de 4°C y el tercero a una temperatura de 10°C y el cuarto cultivo a 30 °C.
- Todos los cultivos fueron incubados por un periodo de cuatro días.
- Se obtuvo un crecimiento óptimo del *Azotobacter* sp. a una temperatura 26°C.

- **Prueba de anaerobiosis**

Procedimiento:

- Las cepas de *Azotobacter* sp. fueron sembradas por estrías en placas Petri en un medio de cultivo agar Ashby.
- Se les sometió a una condición anaerobia, para lo cual se colocó las cepas dentro de una campana de vidrio que contenía a la vez una vela

pequeña encendida. La campana estuvo sellada con parafina y cinta adhesiva, lo que garantizó el ambiente anaerobio.

- Todo el sistema se incubó a una temperatura centígrada de 22 grados, durante cinco días.
- Al finalizar el quinto día, se verificó la ausencia de crecimiento de cepas de *Azotobacter* sp.

- **Prueba de Ph**

El procedimiento:

- Se sembraron las cepas de *Azotobacter* sp. en placas Petri con un medio de cultivo de Ashby.
- Se utilizó medios de cultivo Ashby con diferentes valores de Ph: a) Ph 2; Ph 3; Ph 5; Ph 6; Ph 8 y Ph 9, los que fueron titulados con HCl 0, 1 N y NaOH 0, 1N, antes de ser esterilizados en el autoclave.
-
- Las cepas con diferentes valores de Ph, se incubaron a 26°C por 4 días.
-
- Al quinto día, se verificó que hubo solo crecimiento de las cepas con valores de Ph 6, lo que autentica la presencia de *Azotobacter* sp., en las demás no hubo desarrollo.

e) Obtención de biomasa de *Azotobacter* sp. en laboratorio.

Se aplicó el siguiente procedimiento:

- La cepa seleccionada y autenticada se sembró por el método de estrías en placas que contenían el medio de cultivo *Ashby*.
- Las cepas se incubaron a una temperatura de 26°C durante cuatro días.
- Al cuarto día, se cosecharon las colonias desarrolladas con la ayuda de una espátula de *drygalsky*, para lo cual se utilizó una mezcla homogénea en las superficies de las placas con agua destilada estéril.
- Las cepas cosechadas se transfirieron a un biorreactor y enrazadas hasta un litro con el caldo LG estéril.
- Al biorreactor se le inyectó aire, con la ayuda de una bomba y mangueras de polietileno transparentes de tres milímetros de diámetro, para lo cual se hizo burbujear 250 ml de solución de azul de metileno en un matraz y conducido hacia el biorreactor, para burbujear el caldo nutritivo LG, que contenía al *Azotobacter* sp.
- Este sistema estuvo en funcionamiento continuo a una temperatura permanente de 26°C, durante cuatro días.

- Al cuarto día, para el conteo de bacterias se utilizó la cámara de Neubauer en diluciones de 10⁻¹; 10⁻² y 10⁻³..
- Mediante el conteo, se verificó una biomasa con una población de 1 x 10⁸ bacterias/ ml.

f) Preparación del inoculante de *Azotobacter* sp. en el laboratorio

Se preparó biomasa microbiana de la siguiente manera:

- Se extrajo del biorreactor 500 ml de biomasa con una probeta estéril.
- Se transfirió a un recipiente de vidrio estéril que contenía 500 ml de agua potable.
- Se homogeneizó mediante un movimiento de rotación, para favorecer la mezcla del agua y la biomasa.
- Se procedió a realizar dos surcos en forma de medialuna en cada plántula de *Allium cepa* L. de 15 días de crecimiento.
- Con la ayuda de una jeringa hipodérmica estéril de 25 ml, se colocó en cada uno de los surcos la mezcla de biomasa microbiana de 25 ml., en tres ocasiones cada 15 días.
- Con la ayuda de una pala de jardinería se cubrió con suelo cada surco.

g) Fase de laboratorio de *Azospirillum* sp.

- **Recolección de muestra de cultivo**

Se recolectaron las muestras de suelo en monocotiledóneas y dicotiledóneas en el distrito de Pocollay de la provincia de Tacna. Del total del área, se muestrearon cinco zonas de cultivo de frutales, tomándose de cada punto aproximadamente 200 a 250 gramos de suelo con la ayuda de una pala, para un total de 1000 gramos. Las muestras se colocaron en bolsas de papel *kraff*, trasladándose el mismo día al laboratorio, en la cual se conservaron a temperatura ambiente y se procesaron en el transcurso de las cinco horas siguientes.

- **Aislamiento y purificación de *Azospirillum* sp. (Anexo 1)**

Para aislar y purificar la bacteria, se utilizó el método de Dobereiner (1980). Se tomaron las raíces de las plantas de maíz, las que se limpiaron cuidadosamente, tratando de no dañarlas, luego se lavaron generosamente con agua corriente, para eliminar restos de suelo, y se cortaron en trozos entre 1,5 y 2 centímetros de longitud.

Los trozos de raíz se desinfectaron con hipoclorito de sodio, con una fórmula al 2% por cinco minutos, y luego se lavaron tres

veces con agua desionizada estéril. Posteriormente se introdujo cada trozo de raíz en tubos que contenían 10 ml de medio nfb semisólido, repitiéndose dicho proceso cinco veces (cinco repeticiones), los cuales se incubaron a temperatura de 260 centígrados por un periodo de siete días.

Transcurrido el tiempo de incubación, se seleccionaron los tubos que presentaron la formación de un velo espeso de color blanco (0,3 y 0,5 mm) en la superficie del medio NFb semisólido.

A continuación, de los tubos que presentaron una reacción positiva, con la ayuda de un asa bacteriológica se sembraron por estrías en placas que contenían medio NFb sólido, las que se incubaron por cinco días a una temperatura de 260 centígrados. Transcurrido el tiempo se observaron las colonias de color blanquecino de *azospirillum* sp.

- **Tinción de Gram**

Se utilizaron cultivos del medio NFb sólido, los cuales fueron teñidos siguiendo la modificación de Hucker (Fernández *et al* 1978). Se determinó la reacción de Gram y la morfología celular de cada una de las cepas.

- **Prueba de oxidasa**

La prueba de la oxidasa se utilizó para identificar la presencia de enzimas oxidasas, basado en la reacción de la oxidasa ante la presencia de un sistema de citocromooxidasa que activa la oxidación del citocromo que es reducido por el oxígeno molecular que produce agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana (Jenkins, Richard y Daigger, 1993). El procedimiento se realizó utilizando tiras de papel impregnadas con el reactivo para-amino-N-dimetil-anilina, que se oxida por la citocromo-oxidasa. Seguidamente, se impregnó la zona coloreada de la tira reactiva con una colonia de bacterias, para después de un minuto, apreciar si la zona coloreada cambia a un color azul-violeta.

- **Tinción de gránulos de poli b hidroxibutirato**

Para esta prueba se utilizaron cultivos de 24 a 48 horas incubados a 26⁰ centígrados de NFb semisólido.

La tinción de gránulos de phb se realizó de acuerdo al procedimiento de Bradshaw (1976), según el siguiente detalle (Jenkins, Richard y Daigger, 1993):

- Se tiñó el frotis con Solución I (Negro Sudán B (IV) al 0,33% (p/v) en etanol 60%) durante 10 minutos. Si se observa que se evapora, se añade más colorante.
- Se vertió el exceso de colorante y lavó con agua destilada.
- Se secó con papel secante o filtro.
- Se tiñó con solución II (Safranina al 0,5% (p/v) en solución acuosa) durante 15 segundos.
- Se aclaró con agua destilada.
- Se secó con papel filtrante o secante.
- Se observó al microscopio con objetivo de inmersión (100X).
- Los resultados que se esperó encontrar fueron :
 - a) Gránulos intracelulares negro-azulados: PHB+
 - b) Citoplasma rosa claro o sin teñir: PHB-

- **Utilización de glucosa como única fuente de carbono**

Los procedimientos seguidos se basaron en el descrito por Krieg y Dobereiner (1984):

- Se transfirió una azada de un cultivo crecido en medio NFb semisólido a un tubo con 10 ml de medio semisólido con glucosa y libre de nitrógeno.

- Se elimina el azul de bromotimol y se reemplaza el ácido málico por 1% m/v de glucosa esterilizada mediante filtración.
- Los tubos se incubaron a 26° C por tres días.
- A continuación, se tomaron como positivos los que mostraron el crecimiento de un velo blanco y espeso justo debajo de la superficie.

- **Preparación de inoculante**

El inoculante se preparó suspendiendo el crecimiento de cinco placas *petri* de cada una de las cepas, se siembra por estría en agar NFb e incubados por cinco días a una temperatura de 26⁰ centígrados.

Transcurrido el tiempo, y habiendo desarrollado las colonias de *azospirillum* sp. , se procedió a agregar en la caja *petri* caldo NFb y homogeneizar las colonias con la ayuda de una espátula de *Drygalsky* , tratando de arrastrar y transferidas al biorreactor , que contenía caldo NFb para su incubación por un periodo de 48 horas, a fin de obtener la biomasa microbiana 10⁸ .

- **Consortio de *Azotobacter* sp. y *Azospirillum* sp.**

- **Elaboración de inoculante de *Azotobacter* sp. y *Azospirillum* sp.**

Para obtener el inoculante de *Azotobacter* sp. y *Azospirillum* sp. se realizó la composición de 1000 mililitros del inoculante *Azotobacter* sp. (Cepa purificada) y 1000 mililitros del inoculante de *Azospirillum* sp. (cepa purificada) , seguidamente ambas especies se combinaron, después de haber realizado la biomasa microbiana 10^8 ufc en el biorreactor.

- **Inoculación en el campo en plantas de *Allium cepa* L. var. amarilla**

Se realizó alrededor del tejido radicular de las plantas de cebolla una excavación en forma de media luna a 5 cm de profundidad, con la ayuda de una pala pequeña de jardinería. Seguidamente, se agregó el inoculante de *azotobacter* sp. y *azospirillum* sp. (250 ml), y a continuación se cubrió con el suelo previamente retirado.

- **Repeticiones**

Se realizó tres inoculaciones en cada bloque. La primera inoculación se realizó a los 15 días después de haber transplantado la cebolla *Allium cepa* L. var. amarilla; la segunda a los 30 días y la tercera a los 45 días.

En todos los casos, el procedimiento se realizó en el horario de tarde, entre las 5 a 6 horas. Asimismo, para la inoculación el suelo estuvo en capacidad de campo.

- **Procedimiento para el cultivo de *Allium cepa* L. var. amarilla**

- I. Preparación del terreno**

Teniendo en cuenta la naturaleza del terreno, se realizó una labor de vertedera, de aproximadamente 30 a 35 cm. por la corta longitud de las raíces.

- II. Fase de almacigado**

- a. **Selección de semillas:** se seleccionó la variedad amarilla y se determinó el tipo de preparación, la época, el tiempo y el manejo durante todo el desarrollo del cultivo.
- b. **Preparación del almácigo:** después de la preparación del suelo, el cual presentaba una textura franco arenosa, de características de terreno *suelto*, sin estratas de compactación que restringiesen la infiltración profunda de aguas de riego o lluvias, sin infestación de malezas y con agregado de materia orgánica (*humus*) con un mullido homogéneo suficiente para la profundidad radicular, lo que permitió una mejor aireación, permeabilidad y capacidad de retención de agua, en este contexto, se procedió a sembrar los almácigos por siembras en camas almacigueras con dimensiones aproximadas de 10 metros

de largo por 01 metro de ancho y con aplicaciones de materia orgánica (M.O.) o estiércol con cintas de goteo ; lo que consintió una mejor distribución de la semilla, control más exacto de la dosis de semilla, profundidad de siembra pareja y obtención de plántulas uniformes y de buena calidad .

III. Fase de siembra :

Las semillas se impregnaron con Benomyl a razón de 30gr/lata (cada lata contiene alrededor de 100 000 semillas) y el rociado se hizo a razón de 150-180 semillas/mL (6,5 – 5,5 camas/Lata) cuando es mediante camas almacigueras. Asimismo, la aplicación del primer riego se realizó de modo semipesado, para luego continuar con riegos ligeros y frecuentes, hasta la emisión de la radícula y salida del codo a la superficie en un periodo de 10 a 15 días.

IV. Fase de trasplante

a. Arranque de plántulas

Previamente, para facilitar la labor de arranque de plántulas y no dañar los almácigos, se suspendió el riego tres días antes de iniciar la labor. Antes del trasplante, se seleccionaron las plantas según el tamaño, teniendo en cuenta que tuviesen las siguientes características de crecimiento aceptable para iniciar la fase de trasplante: i) 4 -5 hojas

verdaderas; ii) 15 -20 cm de altura; iii) Sobre 6,0 mm de diámetro en falso cuello; iv) 7,0 mm de diámetro de bulbillo.

b. Preparación del terreno definitivo

El trazo para el distanciamiento de plántulas se realizó en función al tipo de cebolla que se cultivó. Comúnmente, estas densidades están entre 10 000 mL a 22 000 mL/ha. Las camas de trasplante estuvieron al nivel del tipo de suelo.

c. Riegos

El primero es un riego pesado, aplicado al terreno sin la plantación, a fin de saturar el suelo por encima de su capacidad de campo, hasta el punto de escurrimiento para provocar el desplazamiento de sales y obtener una franja con un nivel de humedad óptimo, procediéndose posteriormente con riegos frecuentes para mantener la humedad.

d. Plantación

Teniendo en cuenta, que al momento del arranque se generan daños radiculares, antes del transplante se enjuagaron las raíces para liberarlas de restos de suelo y desinfectarlas durante 10 minutos. Para mantener las distancias entre plántulas homogéneamente, el

trasplante se hizo con plantillas lineales, dando densidades entre 150 000 plantas/ha a 350 000 plantas/ha.

V. Fase de adaptación (1ª semana)

Realizado el trasplante, se mantuvo la franja humedecida constantemente, para evitar daño por deshidratación, ya sea a nivel radicular o de cuello, lo cual dificultaría la emisión de raíces y agotamiento nutritivo e hídrico de las plántulas.

VI. Fase de crecimiento lento (2ª a 4ª semana)

En esta fase, recién se inicia la aplicación de biofertilizantes : consorcio *Azotobacter* sp y *Azospirillum* sp.

Desmalezado 01 (semana 03)

Se realizó de forma manual, para evitar la dominancia foliar sobre el cultivo de cebolla. Asimismo, se eludió el uso de herbicidas.

VII. Fase de crecimiento rápido (5ª a 10ª semana)

En esta etapa la planta de cebolla acelera su crecimiento del área foliar; así como del área radicular, manifestándose una succulencia originando un ablandamiento de los tejidos, lo que provoca el tumbado de hojas, dándose lugar a la apertura de las mismas , lo que permite dejar descubierta la parte interna del falso cuello.

VIII. Riego

En esta fase se aplicaron riegos frecuentes, lo que mantuvo el suelo en *capacidad de campo*, ya que el sistema radicular de las plantas está en la etapa de crecimiento rápido.

IX. Biofertilización

Los biofertilizantes se aplicaron a los 15, 30 y 45 días, según el diseño experimental.

X. Fase de bulbeo

a) Inicio de bulbeo (8^a a 10^a semana)

Fase en que la planta inicia la acumulación de sustancias de reserva hacia el bulbo.

b) Bulbeo propiamente dicho (11^a a 15^a semana)

Fase en la que disminuye la succulencia en el área foliar, por lo que las hojas se ponen rígidas y erectas para facilitar la acumulación de sustancias de reserva hacia el bulbo; cambiando a un color verde oscuro.

c) Riegos

Fase en la que se aumentó la frecuencia de riegos hasta la semana 15, a fin de proveer de agua a la planta y mantener la succulencia del área foliar, y asegurar el crecimiento óptimo de los bulbos.

d) Maduración de bulbo (14ª a 16ª semana)

En esta etapa, el bulbo alcanzó el máximo diámetro ecuatorial, al mismo tiempo se inició la deshidratación de las catáfilas externas, pero manteniendo una rigidez, lo que evita que el bulbo se deshidrate y a la vez mantenga las sustancias de reserva acumuladas.

e) Cosecha

Se realizó con el bulbo maduro y 60% de tallo caído.

3.7. Procedimiento de análisis estadístico

Se utilizó la técnica del análisis de variancia con una probabilidad F alfa 0,05 y 0,01. Para la comparación de los promedios de tratamientos se utilizó la prueba de Rango Múltiple de Duncan al nivel de alfa 0,05. Los resultados de los experimentos fueron analizados mediante el software estadístico *Stapgraphics plus versión demo*.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS

4.1. Tamaño de hoja

Tabla 1

Análisis de varianza de tamaño de hoja de la *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”

F de V	gl	sc	cm	Fc	fa
Bloques	3	7,2619	2,42063		3,862548
Tratamientos	3	504,5067	168,1689	0,283042	
Q1	1	502,5896	502,5896	19,66384	5,117355
Q2	1		0,112066	58,76736	
		0,112066		0,013103	
Q3	1	1,805	1,805		
				0,211057	
Error experimental	9	76,9697	8,552188		
TOTAL	15	588,7383			

Fuente: Ficha de observación

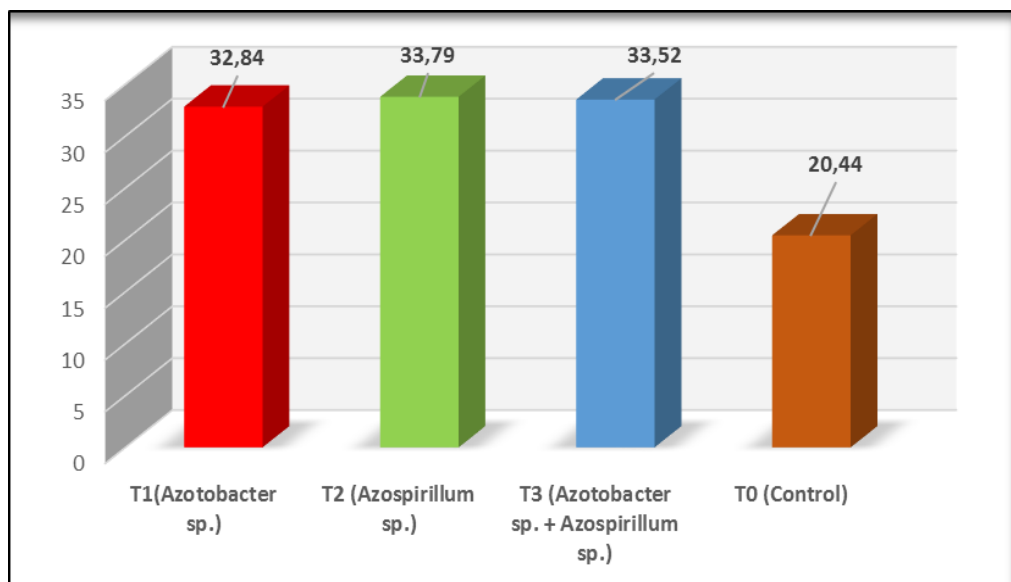


Figura 1. Longitud de hoja de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”

Fuente: Tabla 1

Interpretación

En la Tabla y en la Figura 1, se observan que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, lo que indica que por lo menos un tratamiento ha influido en el tamaño de hoja. Para determinar cuál de los tratamientos es diferente, se realizó los contrastes ortogonales determinándose que cuando se compara los tratamientos T3, T2 y T1 con To se observa que existen diferencias estadísticas significativas, es decir, en promedio los tratamientos *Azotobacter* sp. + *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp. y *Azospirillum* sp., fueron superiores al testigo (To), en

tanto que cuando se compara *Azotobacter* sp. + *Azospirillum* sp. con *Azotobacter* y *Azospirillum* sp. Individualmente, estadísticamente son similares.

De igual modo, cuando se compara *Azotobacter* sp. con *Azospirillum* sp. no existen diferencias estadísticas ($P > 0,05$); por tanto, cuando se aplica *Azotobacter* sp.+ *Azospirillum* sp. (T3), *Azotobacter* sp. (T2) y *Azospirillum* sp. (T1) el tamaño de hoja de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” fue similar, según se observa en la Figura 1.

La incidencia en el proceso productivo se determinó evaluando el rendimiento, sin embargo, los resultados nos muestran un efecto estimulante del consorcio, relacionado indudablemente, con la mejora de los procesos fisiológicos, vinculados a la fotosíntesis, respiración, crecimiento radicular, absorción, transporte y asimilación de elementos nutritivos.

4.2. Calibre del bulbo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”

Tabla 2

Análisis de varianza de largo de bulbos de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”

F de V	gl	sc	cm	Fc	fa
Bloques	3	0,472925	0,157641667	1,532526802	3,862548
Tratamientos	3	0,330875	0,110291667	1.07220977	
Error experimental	9	0,925775	0,102863889		
TOTAL	15	1,729575			

Fuente: Ficha de observación

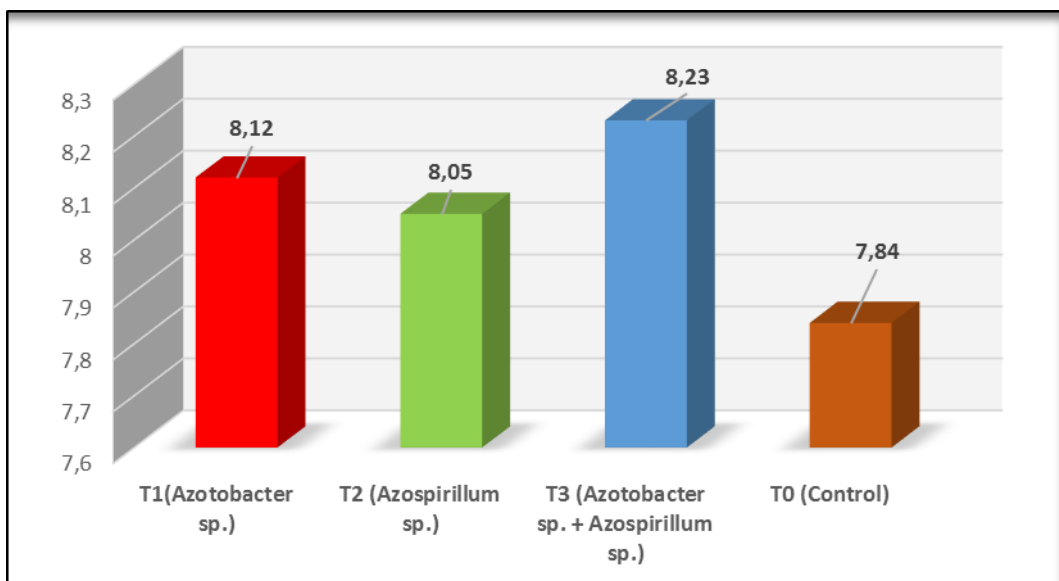


Figura 2. Largo de bulbo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” (cm)

Fuente: Tabla 2

Interpretación

El calibre de bulbo de cebolla está determinado por el largo y el ancho del bulbo. En la Tabla 2 y en la Figura 2, se observa el análisis de varianza de largo de bulbo (cm), apreciándose que estadísticamente no hay diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos, por lo que se puede pensar que no ha tenido influencia el *Azotobacter* sp. , *Azospirillum* sp. y la combinación de los mismos, sin embargo, con la aplicación del T3 el largo del bulbo de la cebolla es superior a los resultados con los otros tratamientos (T1 y T2) (Tabla 2).

Tabla 3

Análisis de varianza de ancho de bulbos de *Allium cepa* L. var.

Amarilla “Cebolla”

F de V	gl	sc	cm	Fc	fa
Bloques	3	1,71935	0,573116667	2,5816066	3,862548
Tratamientos	3	0,16415	0,054716667	0,2464714	
Error experimental	9	1.998	0,222		
TOTAL	15	3,8815			

Fuente: Ficha de observación

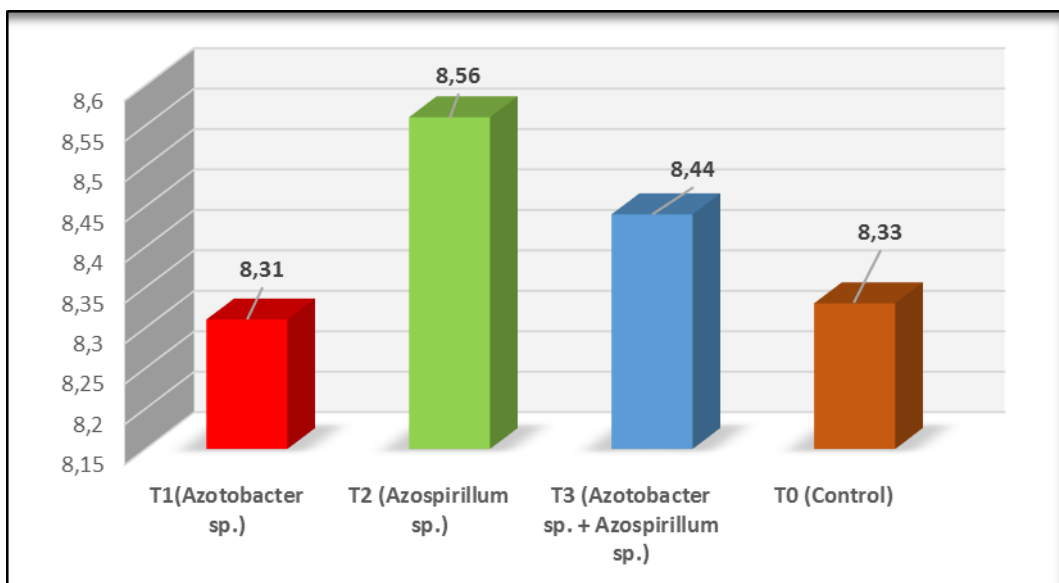


Figura 3. Ancho de bulbo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” en centímetros por unidad experimental

Fuente: Tabla 3

Interpretación

Se aprecia en la Tabla 3, el análisis de varianza del ancho del bulbo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”, observándose que entre tratamientos no hay diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$) por lo que se puede deducir que la aplicación de *Azotobacter* sp. , *Azospirillum* sp. y la combinación de ambos ,no han tenido efecto significativo en el ancho de bulbo de cebolla. Sin embargo, con T2 los resultados se obtuvo un mejor ancho de bulbo, comparativamente con T1 y T3.

4.3. Producción de bulbos de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”

Tabla 4

Análisis de varianza de producción de bulbos de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”

F de V	gl	sc	cm	Fc	fa
Bloques	3	17,461875	5,820625	6,273257	3,490294
Tratamientos	3	46,771875	15,590625	16,80300	3,490294
Q1	1	40,516875	40,516875	43,66761	5,117355
Q2	1	3,3750	3,375	3,637452	
Q3	1	2,880	2,880	3,103959	
Error experimental	9	8,35062	0,9278472		
TOTAL	15	72,584375			

Fuente: Guía de observación

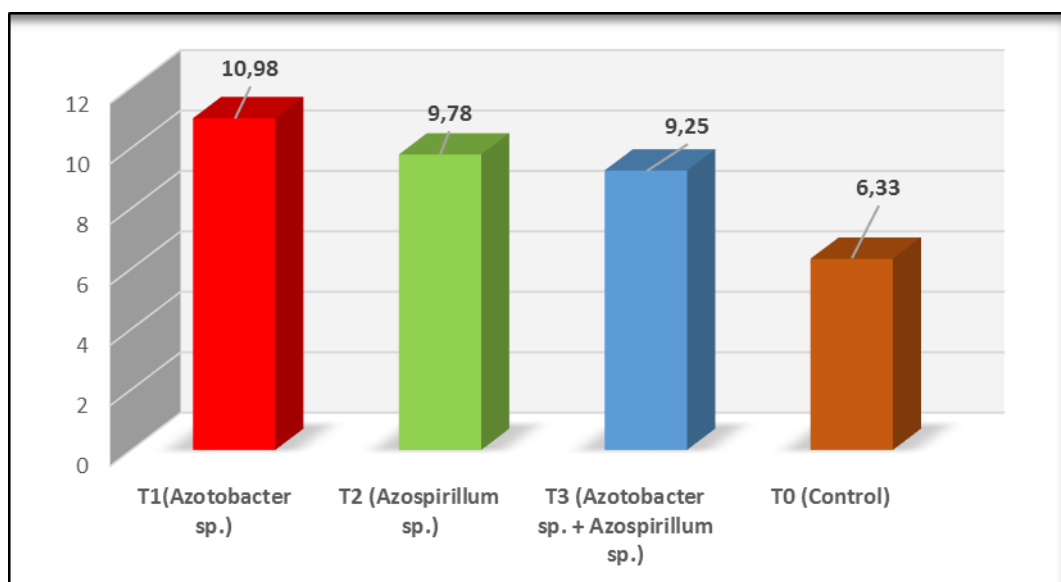


Figura 4. Producción de bulbos de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” (kg/Ha)

Fuente: Tabla 4

Interpretación

En la Tabla y Figura 4, se presenta el análisis de varianza de producción de bulbos de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” (kg/ha) por unidad experimental, en la que se aprecia que existen diferencias significativas entre bloques ($P < 0,05$), lo que indica que el diseño experimental fue elegido adecuadamente. Entre tratamientos existen diferencias

estadísticas altamente significativas, lo que denota que por lo menos un tratamiento en promedio es diferente a los demás.

Para determinar cuál de los tratamientos es diferente, se realizó las comparaciones de medias de tratamientos. Por la naturaleza de los tratamientos se ha utilizado las comparaciones ortogonales, en el que al comparar los tratamientos *Azotobacter sp.* , *Azospirillum sp.* y la combinación de los dos resultaron ser superiores en promedio frente al tratamiento testigo. Al realizar la comparación entre el tratamiento *Azotobacter sp.* +*Azospirillum sp.* resultó no significativo frente a los tratamientos *Azotobacter sp.* y *Azospirillum sp.* en promedio y finalmente al realizar la comparación entre *Azotobacter sp.* y *Azospirillum sp.* estadísticamente resultó ser similares en la producción de bulbos de cebolla.

Tabla 5

Rendimiento de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” (kg/parcela)

	T₀	T₁	T₂	T₃
Bloque I	10	10	7,2	9,10
Bloque II	7,00	13,30	12,30	10,20
Bloque III	6,30	10,30	10,30	9,60
Bloque IV	7,0	10,30	9,30	8,100

Fuente: Guía de observación

Leyenda

T₁: *Azotobacter* s.p.

T₂: *Azospirillum* s.p

T₃: *Azotobacter* s.p. + *Azospirillum* s.p

T₀: Testigo

Interpretación

Según se observa en la Tabla 5, podemos apreciar que el rendimiento productivo de la cebolla por parcela (kg/parcela), muestra diferencias aunque escasas, entre tratamientos

Tabla 6

Rendimiento de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” (t/ha)

	T₀	T₁	T₂	T₃
Bloque I	15,00	36,000	34,400	32,200
Bloque II	14,00	35,250	35,600	30,400
Bloque III	16,00	38,500	34,100	32,200
Bloque IV	14,000	36,600	35,400	32,500

Fuente: Guía de observación

Leyenda

T₁: *Azotobacter* sp.

T₂: *Azospirillum* sp.

T₃: *Azotobacter* sp. + *Azospirillum* sp

T₀: Testigo

Interpretación

Igualmente, se aprecia en la Tabla 6, podemos observar que el rendimiento productivo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” por t/ha, en el Bloque III y con el tratamiento 1 (*Azotobacter* s.p.) alcanza el mayor rendimiento (38 500 t/ha).

4.4. Prueba de hipótesis

Para la contratación de la hipótesis, se optó por un análisis de varianza, ya que nos permite contrastar la hipótesis nula de que las medias de K poblaciones ($K > 2$) son iguales, frente a la hipótesis alterna que afirma de que por lo menos una de las poblaciones difiere de las demás en cuanto a su valor esperado. Este contraste, es fundamental en el análisis de un estudio experimental, en los que resulta interesante comparar los resultados de K tratamientos con respecto a la variable dependiente.

Sin embargo, el análisis de la varianza o *ANOVA* requiere del cumplimiento de los siguientes presupuestos:

- a) **Normalidad:** distribuciones de probabilidad de la variable dependiente correspondiente a cada factor.
- b) **Las K muestras** sobre las que se aplican los tratamientos son independientes.
- c) **Homocedasticidad:** las poblaciones tienen todas igual varianza.

En tal sentido, se realizó la prueba de *Kolmogorov-Smirnov* y *Shapiro-Wilk* :

H₀: Los puntajes del grupo i siguen una distribución normal.

H₁: Los puntajes del grupo i no siguen una distribución normal.

Tabla 7

Prueba de normalidad

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Hoja	0,253	16	0,007	0,825	16	0,006
Largo bulbo	0,121	16	0,200*	0,947	16	0,446
Ancho bulbo	0,158	16	0,200*	0,942	16	0,372
Producción	0,165	16	0,200*	0,963	16	0,724

Fuente: Elaboración propia

a. Corrección de la significación de Lilliefors

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

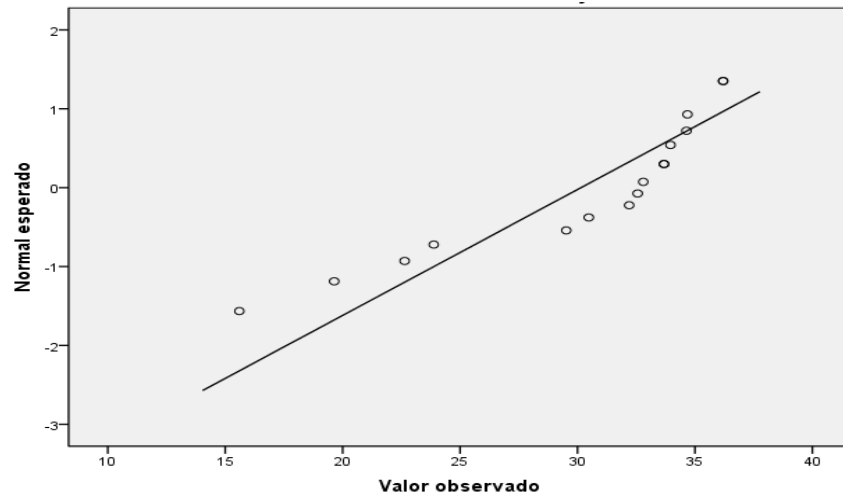


Figura 5. Gráfico Q-Q normal hoja

Fuente: Tabla 7

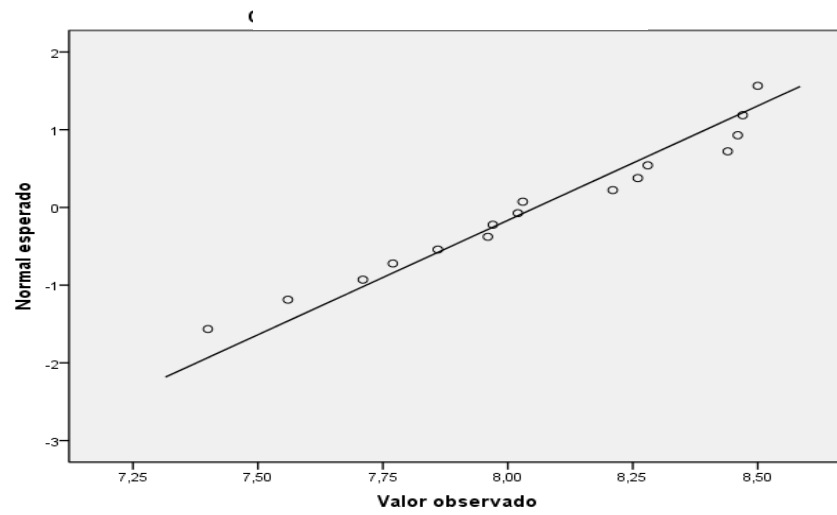


Figura 6. Gráfico Q-Q normal largo de bulbo

Fuente: Tabla 7

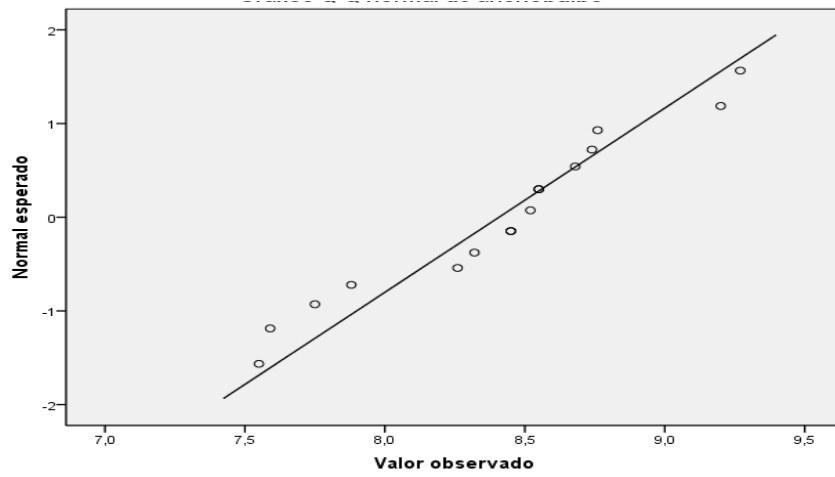


Figura 7. Gráfico Q-Q normal ancho de bulbo

Fuente: Tabla 7

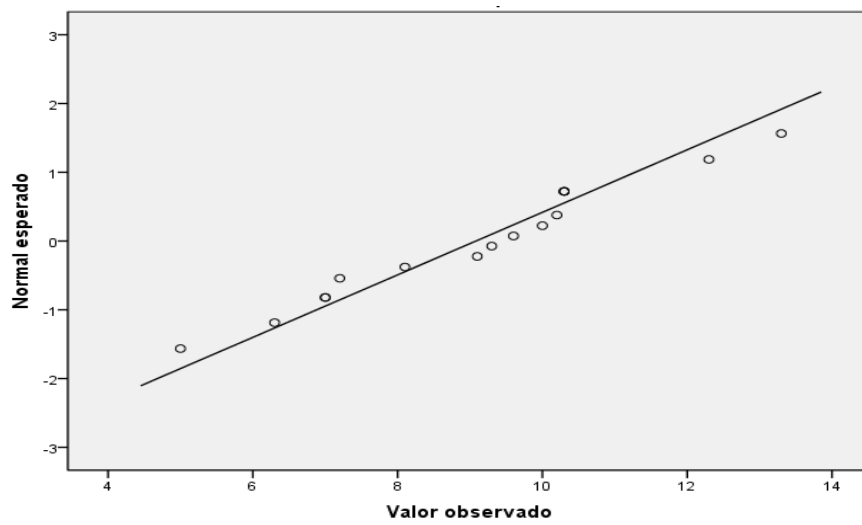


Figura 8. Gráfico Q-Q normal producción

Fuente: Tabla 7

Interpretación

En la Tabla 7 y Figura 5 , se aprecia que para la distribución de los datos del **indicador de hoja**, el estadístico de prueba Kolmogorov – Smirnov con la corrección de Lilliefors y la prueba de Shapiro-Wilk , presenta un nivel de significación menor a 0,05; en consecuencia se rechaza la hipótesis de normalidad; la Figura Q-Q normal ratifica la conclusión de no rechazo de la hipótesis nula, ya que los valores observados no se sitúan sobre la recta esperada bajo el supuesto de normalidad.

Sin embargo, los datos del indicador **largo de bulbo, ancho de bulbo y producción presentan** un nivel de significación mayor a 0,05, por lo que no se rechaza la hipótesis nula de normalidad, lo cual se confirma con las Figuras Q-Q normal 6,7 y 8, ya que los valores observados se sitúan sobre la recta esperada bajo el supuesto de normalidad (Tabla 7 y Figuras 6,7 y 8).

– Prueba de homogeneidad de varianzas

Se utilizó el valor del estadístico de Levene, que “testea si las varianzas de dos o más grupos son iguales entre sí [...] La hipótesis nula de la prueba de Levene sostiene que las varianzas de los grupos son iguales entre sí; la hipótesis alternativa, supone que las variables son diferentes entre sí” (Blacutt, 2012,1).

Tabla 8

Prueba de Levene

	Estadístico de			Sig.
	Levene	gl1	gl2	
Hoja	1,093	3	12	0,389
Largo bulbo	0,431	3	12	0,734
Ancho bulbo	8,694	3	12	0,002
Producción	1,117	3	12	0,381

Fuente: Guía de observación

Decisión: en todos los casos el estadístico de Levene toma un valor lo suficientemente pequeño para no rechazar la hipótesis de homocedasticidad a los niveles de significación habituales (Sig. mayor a 0,05), a excepción de los valores ancho de bulbo (Sig. Menor a 0,05) (Tabla 6).

En tal sentido, se aplicó el ANOVA en cuanto los datos cumplieron los presupuestos y la prueba de Kruskal-Wallis.

Primera hipótesis específica

H_0 : $\mu_{a1} = \mu_{a2} = \mu_{a3} = \mu_{a0}$ (En promedio las cuatro condiciones producen la misma respuesta)

H_1 : **Alguna μ_i es distinta** (Al menos una condición produce una respuesta promedio diferente del promedio de cuando menos una de las demás condiciones)

Tabla 9

Prueba de rangos

Tratamiento		N	Rango promedio
Datos hoja	t1	4	9,38
	t2	4	10,88
	dimension1 t3	4	11,25
	t0	4	2,50
Total		16	

Fuente: Elaboración propia

Tabla 10

Prueba de Kruskal-Wallis

Datos hoja	
Chi-cuadrado	8,844
gl	3
Sig. asintót.	0,031

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: tratamiento

Fuente: Elaboración propia

Decisión: Por lo que se refiere al variable tamaño de la hoja, el estadístico de prueba es de 8,844 con una Sig. 0,031 (menor a 0,05), por tanto se rechaza la hipótesis nula, y se dice que existen diferencias significativas entre los cuatro tratamientos (t1, t2, t3 y t0) (Tabla 9 y 10).

Tabla 11

Prueba Post Hoc Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
t0	4	20,4400	
t1	4		32,8400
dimension1 t3	4		33,5200
t2	4		33,7900
Sig.		1,000	,639

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 4.000.

Fuente: Elaboración propia

Según se observa en la Tabla 11, en el subconjunto 1, se ubica el grupo testigo (p-valor=1) y en el grupo 2 el t1,t2 y t3 (p-valor=0,639).

Segunda hipótesis específica

H_0 : $\mu_{a1} = \mu_{a2} = \mu_{a3} = \mu_{a0}$ (En promedio las cuatro condiciones producen la misma respuesta)

H_1 : **Alguna μ_i es distinta** (Al menos una condición produce una respuesta promedio diferente del promedio de cuando menos una de las demás condiciones)

Tabla 12

ANOVA

Largo bulbo

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,331	3	,110	0,946	0,449
Intra-grupos	1,399	12	,117		
Total	1,730	15			

Fuente: Elaboración propia

Decisión: Como p (sig) es menor de 0,05, se rechaza la igualdad de medias y se dice que existen diferencias significativas entre los cuatro tratamientos (t1, t2, t3 y t0) (Tabla 12).

Tercera hipótesis específica

H_0 : $\mu_{a1} = \mu_{a2} = \mu_{a3} = \mu_{a0}$ (En promedio las cuatro condiciones producen la misma respuesta)

H_1 : **Alguna μ_i es distinta** (Al menos una condición produce una respuesta promedio diferente del promedio de cuando menos una de las demás condiciones)

Tabla 13

Prueba de rangos

	Tratamiento	N	Rango promedio
Ancho bulbo	t1	4	7,50
	t2	4	10,13
	dimension1 t3	4	7,88
	t0	4	8,50
	Total	16	

Fuente: Elaboración propia

Tabla 14

Prueba de Kruskal-Wallis

	Ancho bulbo
Chi-cuadrado	0,713
gl	3
Sig. asintót.	0,870

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: tratamiento

Fuente: Elaboración propia

Decisión: Por lo que se refiere al variable tamaño de la hoja, el estadístico de prueba es de 0,713 con una Sig. 0,870 (mayor a 0,05), por tanto, no se rechaza la hipótesis nula, según la cual los cuatro grupos tienen el mismo efecto (Tabla 13 y 14).

Cuarta hipótesis específica

H_0 : $\mu_{a1} = \mu_{a2} = \mu_{a3} = \mu_{a0}$ (En promedio las cuatro condiciones producen la misma respuesta)

H_1 : **Alguna μ_i es distinta** (Al menos una condición produce una respuesta promedio diferente del promedio de cuando menos una de las demás condiciones)

Tabla 15

ANOVA

Producción

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	46,772	3	15,591	7,248	0,005
Intra-grupos	25,813	12	2,151		
Total	72,584	15			

Fuente: Elaboración propia

Decisión: Como p (*sig*) es menor de 0,05, se rechaza la igualdad de medias y se dice que existen diferencias significativas entre los cuatro tratamientos (t_1 , t_2 , t_3 y t_0) (Tabla 15).

Tabla 16

Prueba post hoc

Tratamiento	Producción		
	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
t0	4	6,3250	
t3	4		9,2500
dimension1 t2	4		9,7750
t1	4		10,9750
Sig.		1,000	0,139

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 4.000.

Fuente: Elaboración propia

Interpretación

Para determinar que tratamientos destacaron en la producción de bulbos de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” ,se realizaron las comparaciones de medias de Duncan, observándose que los tratamientos con *Azotobacter* sp. y *Azospirillum* sp. presentaron promedios de 10,975 y 9,775 (toneladas / ha) y el consorcio con 9,2500 . Según se observa en la Tabla 16, en el subconjunto 1, se ubica el grupo testigo (p-valor=1) y en el grupo 2 el t1, t2 y t3.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Tamaño de las hojas de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”

Los resultados encontrados en el presente trabajo demostraron que las plantas de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”, inoculadas con la bacteria *Azotobacter* sp. (T₁), *Azospirillum* sp. (T₂); consorcio *Azotobacter* sp. + *Azospirillum* sp. (T₃), tuvieron similares parámetros biométricos, en cuanto al tamaño de las hojas, en comparación con las plantas sin inoculación (T₀: Testigo).

Tamaño de las hojas:

En lo que concierne a los resultados obtenidos con los diferentes tratamientos, para el tamaño de las hojas, se halló que con los tratamientos *Azotobacter* sp + *Azospirillum* sp. (T₃), *Azotobacter* sp. (T₁) y *Azospirillum* sp. (T₂) el tamaño de hoja *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”, fue similar (P:>0,05). Sin embargo, al realizarse la comparación con el testigo, se establece que el *Azospirillum* sp. estimula un mejor

crecimiento y desarrollo del sistema foliar, que incidirá en el crecimiento y desarrollo del cultivo y finalmente en su rendimiento.

Calibre (largo y ancho) del bulbo:

En cuanto al calibre del largo y del ancho del bulbo, *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” se halló que la inoculación con el T3 (*Azotobacter* sp + *Azospirillum* sp.) determinó un largo del bulbo superior frente a los tratamientos T1 y T2, pero estadísticamente las diferencias no fueron significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos (T₁; T₂; T₃ y T₀), resultados discordantes con los de Valderrama *et al* (2012), quienes aplicaron el consorcio *Azospirillum* sp., *Azotobacter* Sp. y *Trichoderma* sp. como estimuladores en la germinación de esquejes de caña de azúcar, encontrando una diferencia significativa frente al testigo, para estimular la germinación de las semillas de caña de azúcar. Empero, encontramos que el ancho del bulbo de la cebolla, se incrementó con la aplicación del *Azospirillum* sp (T2) respecto a los demás, aunque las diferencias no fueron significativas estadísticamente ($P > 0,05$).

Producción de bulbos:

Al comparar los tratamientos *Azotobacter sp* (T1), *Azospirillum sp* (T2) y la combinación de los dos (T3), encontramos que los resultados en cuanto a la producción de bulbos de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”, resultaron los tres superiores en promedio frente al tratamiento testigo (T0); sin embargo al comparar el efecto del consorcio *Azotobacter sp.* + *Azospirillum sp* (T3) resultó no significativo frente a los tratamientos solo de *Azotobacter sp.* y solo de *Azospirillum sp.* Cabe mencionar que el efecto del T1 resultó ser más favorable en la producción de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”, que los T2, T3 y T0. Hallazgos similares respecto al efecto de la bacteria *Azospirillum sp.* reporta León *et. al* (2009) , quienes tampoco encontraron diferencias significativas entre *Azospirillum brasilense* y el testigo, al evaluar tres tratamientos diferentes para la productividad de la cebolla (cv *Kristal*), pero mediante la inoculación de rizobacteria *Azospirillum brasilense* , el hongo micorrízico arbuscular (HMA) y un testigo absoluto.

Asimismo, en nuestro estudio, estadísticamente los tratamientos con *Azotobacter sp.* y *Azospirillum sp.* presentaron promedios de 10,975 y 9,775 kg/ha similares en cuanto a la producción de bulbos, pero

superiores a los resultados obtenidos con el consorcio *Azotobacter* sp. + *Azospirillum* sp. y el testigo. Los hallazgos obtenidos, son discordantes con resultados de estudios similares, v.g. en el Perú, Escobar *et al* aplicaron *Azotobacter* spp. en el desarrollo del tomate y encontraron que incrementó significativamente la altura, el volumen radicular, la materia total, la parte aérea y radicular frente al testigo; igualmente en Persia, Soleimanzadeh *et al* (2013) informó que el *Azotobacter* tenía un apropiado rendimiento y podría aumentar el desarrollo del grano de trigo en forma aceptable. Igualmente, Villa *et al* (2014) en México, inocularon tres cepas nativas de *Azospirillum* sp en maíz, obteniendo un maíz que desarrolló con mayor intensidad y altura de la planta; situación similar informó Castillejo (2011) al aplicar *Azospirillum* para mejorar la calidad y rendimiento de fresa.

Sin embargo, cabe precisar que en el caso del *Azospirillum* sp. , se afirma que “la intensidad de los efectos sobre la raíz depende de la especie vegetal y del cultivar empleado, y sobre todo de la concentración de *Azospirillum* en el medio” (Palazón ,2015), aspecto que habría influido también en nuestro estudio.

De otro lado, nuestros hallazgos, en cuanto a los resultados de la aplicación del consorcio *Azospirillum* sp +*Azotobacter* sp (T3) también difieren de los resultados encontrados en Irán por Aazadi (2014) quien aplicó el consorcio *Azotobacter* spp. y *Azospirillum* en fases fenológicas y características morfológicas de los cultivares de trigo duro, hallando un efecto positivo.

CONCLUSIONES

Primera

La inoculación de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” con el consorcio *Azospirillum* sp. + *Azotobacter* sp. no incrementó significativamente la uniformidad del crecimiento y desarrollo de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”, frente a los otros tratamientos ($P:>0,05$).

Segunda

La inoculación de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” con *Azospirillum* sp. tuvo un efecto positivo en el desarrollo fisiológico de la longitud de hoja y del ancho del bulbo, comparativamente al consorcio *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. y sólo *Azotobacter* sp., sin embargo, dichas diferencias no fueron significativas ($P:>0,05$).

Tercera

La inoculación de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla” con *Azotobacter* sp. tuvo un efecto positivo en la producción de bulbos respecto a los T2 y T3 y frente al T0 o testigo, pero la diferencia no fue significativa ($P:>0,05$); sin embargo, en cuanto al desarrollo de la hoja,

largo y ancho de bulbo de *Allium cepa* L. var. Amarilla "Cebolla", su efecto fue menor que la observada con los otros tratamientos ($P:>0,05$).

Cuarta

La inoculación de *Allium cepa* L. var. Amarilla "Cebolla" con el consorcio *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. incrementó el largo del bulbo comparativamente a T1, T2 y T0 ($P:> 0,05$), pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

RECOMENDACIONES

Se recomienda a los investigadores:

Primera

Continuar la línea de investigación, tendiente a definir un biofertilizante utilizando cepas nativas, para mejorar la calidad y producción de la *Allium* cepa L. var. Amarilla “Cebolla” con una mayor ventaja en términos de costo –beneficio.

Segunda

Ampliar los estudios con *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. combinados con fertilizantes orgánicos e inorgánicos para analizar el efecto en el desarrollo fisiológicos de los cultivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aazadi M. S. (2014) *The study effect of nitrogen, Azotobacter spp. and Azospirillum spp. on phenological and morphological traits of durum wheat cultivars in Dehloran region, Iran* [En línea] Recuperado de 193.43.36.125/XML_Output/2014/MD/MD1_2014_08.xml [Consulta 23.07.15].

Aguilar P., Xiqui V., García G. y BacaB. (2008) Producción de ácido Indol-3-acético en *Azospirillum*. *Revista Lat. Microbiología* 50:29-37.

Andrade R. (1996) *Información básica sobre la fertilización química foliar. En Fundación El Surco, Quito. Manual de fertilización orgánica y química, diagnóstico nutrimental de las plantas, 2da edic. , Quito.*

Anónimo (2013) *Bacterias fijadoras de nitrógeno* [En línea] Recuperado de <http://www.bosquesmediterraneos.com/wp-content/documentos-pdf/bacterias-fijadoras-nitrogeno.pdf> [Consulta 17.07.15].

Aquilanti, L. Favilli, F y Clementi, F. (2004) *Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of Azotobacter from soil samples*. Soil Biology & Biochemistry. Vol. 36. P.1475-1483

Banayo, N.P.M.; Cruz, P.C.S.; Aguilar, E.A.; Badayos, R.B.; Haefele, S.M. Evaluation of Biofertilizers in Irrigated Rice: Effects on Grain Yield at Different Fertilizer Rates. *Agriculture* 2012, 2, 73-86.

Bashan, Holguín, Glick y Bashan (2007) Root-to-root travel of the beneficial bacterium *Azospirillum brasilense*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2120- 2131.

Bergey, D.H., Harrison, F.C., Breed, R.S, Hammer, B.W. & Huntoon F.M. (1923). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Baltimore: Williams and Wilkins.

Blacutt M. (2012) *Análisis del test de Levene . Igualdad de varianzas* [En línea] Recuperado de <http://www.mailxmail.com/curso-estadistica-aplicada-spss-modulo/analisis-test-levene-igualdad-varianzas> [Consulta 2.1.16].

Borda, D.; Pardo, J.(2009) *Producción de un biofertilizante a partir de un aislamiento de Azotobacter nigricans obtenido en un cultivo de Stevia rebaudiana* Bert. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.

Borda-Molina, Daniel, Pardo-García, Juan Manuel, Montaña-Lara, José Salvador, & Martínez-Salgado, María Mercedes. (2011). *Influencia de la materia orgánica y Azotobacter nigricans en un cultivo de Stevia rebaudiana* B. *Universitas Scientiarum*, 16(3), 282-293. Recuperado de July 08, 2015, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-748320110003_00009&Ing=en&tlng=es. [Consulta 2.05.15].

Bradshaw, L.J. 1976. *Microbiología de Laboratorio*. Traducido del inglés por Gonzalo Peña. El Manual Moderno. México, D.F., México. pp. 26-28, 231.

Caballero J. (s/f) El género *Azospirillum* . En *Rev. Microbios* ISBN 968-36-8879-9 [En línea] Disponible en <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/index.html> [Consulta 25.08.15].

Caballero,J; Onofre, J; Estrada, P.;Martínez, L. 2007. *The tomato rhizosphere, an environment rich in nitrogen-fixing Burkholderia species with capabilities of interest for agriculture and bioremediation.* Appl. Environ. Microbiol. 73:5308-531.

Calvo S. (2011) *Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno* [En línea] Recuperado de [file:///C:/Users/IntelL/Downloads/Dialnet-Bacterias Simbioticas Fijadoras DeNitrogeno-3761553.pdf](file:///C:/Users/IntelL/Downloads/Dialnet-Bacterias%20Simbioticas%20Fijadoras%20DeNitrogeno-3761553.pdf) [Consulta 23.05.15].

Carrillo K., Colmenares L., Moreno L. , Cárdenas D. (2015) Inoculación de Cilantro (*Coriandrum sativum* L.) con Rizobacterias en Villa del Rosario, Norte de Santander. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, Medellín, 68(1), 7459-7470. Retrieved October 10, 2015, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472015000100007&lng=en&tlng=es. 10.15 446 /rfnam.v68n1.47832. [Consulta 11.05.15].

Castillejo L. (2011) *Aplicación de Azospirillum y su efecto en la calidad de rendimiento de fresa (Fragaria x ananassa) Var. Albion cultivada en invernadero* [En línea] Recuperado de <http://itzamna.bnct.ipn>.

mx:8080 /dspace/bitstream/123456789/11116/1/37.pdf [Consulta 23.05.15].

Cerna O., Kline S. Ramírez D. (1993) *Guía sobre producción de cebolla para exportación*. Fundación hondureña de investigación agrícola San Pedro Sula, Honduras.

Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología (2013) *Hormonas vegetales* [En línea] Recuperado de <http://porquebiotecnologia.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tipo=1¬e=128> [Consulta 12.12.15].

Cueto J., Figueroa U. (2012) *Impacto ambiental de la fertilización y recomendaciones para mejorar la eficiencia en el uso de nutrimentos* [En línea] Recuperado de http://www.cofupro.org.mx/cofupro/images/contenidoweb/file/seminario_fertilizacion/presentaciones_9agosto/dia1_presentacion1_jose_cueto.pdf [Consulta 23.07.2015].

Dibut B.(20099) *Biofertilizantes como insumos en Agricultura Sostenible*, Edit. Universitaria, La Habana.

Escobar C. , Horna Y. , Carreño C. y Mendoza G. (2011) *Caracterización de cepas nativas de Azotobacter spp. y su efecto en el desarrollo de Lycopersicon esculentum Mill. "tomate" en Lambayeque* [En línea] Disponible en file:///C:/Users/IntelL/Downloads/Dialnet-CaracterizacionDeCepasNativasDeAzotobacterSppYSuEf-3709173.pdf [Consulta 23.08.15].

Espín G. (2013) *Biología de Azotobacter Vinelandii* [En línea] Disponible en <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap6/> [Consulta 15.07.15].

Finkelstein, R.; Reeves, W.; Ariizumi, T.; Steber, C. 2008. *Molecular aspects of seed dormancy*. Annual Review of Plant Biology. 59: 387-415

FINTRAC IDEA (2012) *Manual del cultivo de cebolla* [En línea] Recuperado de <http://es.slideshare.net/victorchambilla/manual-cultivo-cebolla> [Consulta 23.07.15].

Gallego L. (2008) *Efecto de la sobreexpresión y del Silenciamiento de Genes del Metabolismo de Giberelinas sobre el Desarrollo de*

Tabaco. Memoria de tesis doctoral de la Universidad Politécnica de Valencia [En línea] Recuperado de <http://www.tesisenred.net/handle/10803/22002>

Garay A., De la Paz M., García. Álvarez E. y Gutiérrez C.(2014) *La homeostasis de las auxinas y su importancia en el desarrollo de Arabidopsis Thaliana* [En línea] Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/reb/v33n1/v33n1a3.pdf> [Consulta 12.12.15].

Gutiérrez P. & Rodríguez A. (2013) *Efecto de la inoculación con bacterias diazótroficas en plantas de maíz (Zea mays L.) de distintas variedades* [En línea] Recuperado de <https://www.colibri.udelar.edu.uy/bitstream/123456789/1548/1/uy24-16820.pdf> [Consulta 3.06.15].

Guzmán A., Obando M., Rivera D. y Bonilla R. (2012) Selección y caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) asociadas al cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum*). En *Revista Colombiana de Biotecnología* Vol. 14, Núm. 1 , Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Hernández R., Fernández C. y Baptista P. (2006) *Metodología de la Investigación*, Edit. Mc Graw Hill , México D.F.

INTA (2011) Inoculantes mejorados. En *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, Buenos Aires [En línea] Disponible en <http://ppct.caicyt.gov.ar/RIA> [Consulta 23.07.15].

Investigación y Desarrollo Agroalimentario (2015) *Bacterias fijadoras de nitrógeno en agricultura, alternativa de uso de fertilización nitrogenada inorgánica* [En línea] Recuperado de <http://ideagro.es/index.php/noticias/78-bacterias-fijadoras-de-nitrogeno-en-agricultura-alternativa-al-uso-de-fertilizacion-nitrogenada-inorganica> [Consulta 2.07.15].

Jenkins, Richard y Daigger(1993) *Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming*, 2da Ed., edit. Lewis Publishers, Michigan.

Jordán M., Casaretto J. (2006) *Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Etileno, Ácido Abscísico, Brasinoesteroides*,

Poliaminas, Ácido Salicílico y Ácido Jasmónico. Ediciones Universidad de la Serena, La Serena.

Kim, Tw.; Wang, Z. 2010. Brassinosteroid Signal Transduction from Receptor Kinases to Transcription Factors. *Annual Review of Plant Biology* 61:681-704

Ki –Yoon Kim (2010) *Isolation and evaluation of inoculation effect of Azospirillum sp. on growth, colonization and nutrient uptake of crops under greenhouse condition* [En línea] Recuperado de <http://iuss.org/19th%20WCSS/Symposium/pdf/1716.pdf> [Consulta 27.07.15].

Krieg, N. y Döbereiner, J. 1984. *Genus Azospirillum Tarrand, Krieg and Döbereiner 1979*. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 1. Editado por Noel Krieg y John Holt. Williams & Wilkins. Baltimore, USA. pp. 94-104.

La Guía (2014) *La cebolla* [En línea] Recuperado de <http://biologia.laguia2000.com/botanica/la-cebolla> [Consulta 23.09.15].

Lara C., García L., Oviedo L. (2011) Efecto biofertilizante del preparado: residuos vegetales -bacteria nativa diazótropa, sobre las variables biométricas en plántulas de *Rhapanus sativus* En *Revista Colombiana de Biotecnología*. ISSN: 0123-3475 ISSN electrónico: 1909-8758

León, Y.; Hernández, J.; Rodríguez, N. y Martínez R. (2012) . *Aplicación de Azotobacter chroococcum en la producción de plántulas de tabaco negro*. [En línea]. 2012, vol.33, n.2 [citado 2015-07-08], pp. 29-32. Recuperado de: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362012000200004&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0258-5936

Mantilla C. , Oviedo L. (2011) *Evaluación de bacterias nativas de la zona de Córdoba , con capacidad fijadora de nitrógeno y secretora de ácido indol acético, (AIA) en pastos Angleton (Dichantium aristatum)* [En línea] Recuperado de http://web.www3.unicordoba.edu.co/sites/default/files/Informe%20Final_FCB%2002-07%20Cecilia%20Lara%20Mantilla.pdf [Consulta 23.03.15].

Montgomery D. (2004) *Diseño y Análisis de experimentos*. Universidad Estatal de Arizona, Edit. Limusa Wiley, México D.F.

Municipalidad Provincial de Jorge Basadre (2012) *Plan de Acondicionamiento Territorial de La Provincia Jorge Basadre PAT-JB 2012-2021* [En línea] Disponible en http://www.munijorgebasadre.gob.pe/pagina/web_inst/archivos/transparencia/disp_711.pdf
[Consulta 12.01.15].

Nakajima M.; Shimada A., Takashi Y, Kim Y., Park S., Ueguchi –Tanaka M., Susuky H., Katoh E., Iuchi S., Kobayashi M., Maeda T., Matsuoka M. , Yamaguchi I. (2006) Identification and characterization of Arabidopsis gibberellin receptors. *Plant Journal*. 46:880-889.

Okon, Y.; y Labandera-González, C. A. (1994). *Agronomic applications of Azospirillum. Improving Plant Productivity with Rhizosphere Bacteria. Proceedings of the Third International Workshop on Plant*

Growth-Promoting Rhizobacteria. CSIRO, Adelaide, South Australia.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
(2015) *El uso de fertilizantes sobrepasará los 200 millones de toneladas en 2018* [En línea] Recuperado de <http://www.fao.org/news/story/es/item/277654/icode/> [Consulta 29.07.15].

Ortiz J., Do Nascimento M., Dublan M., Curatti L. (2012) *Association with an Ammonium-Excreting Bacterium Allows Diazotrophic Culture of Oil-Rich Eukaryotic Microalgae* [En línea] Recuperado de <http://aem.asm.org/content/78/7/2345.full> [Consulta 23.05.15].

Pekker, I., Alvarez, J.P. y Eshed, Y. (2005) *Auxin response factors mediate Arabidopsis organ asymmetry via modulation of KANADI activity*. *Plant Cell*, 17, 2899-2910.

Peña M., Martínez J., Pinales J., Aguirre J., Díaz A. y Mata H. (2009) *Producción de cebolla ALLIUM CEPA L. orgánica mediante inoculantes microbianos* [En línea] Recuperado de

http://www.somas.org.mx/pdf/pdfs_libros/agriculturasostenible5/5_1/64.pdf[Consulta 23.04.15].

Perú – Ministerio de Agricultura (2015) *Condiciones agroclimáticas del cultivo de cebolla*, Lima.

Pírez M. (2011) *Morfología y estructura bacteriana* [En línea] Recuperado de http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro_2002/Cap%209.pdf [Consulta 12.09.2015].

Postgate J. (1998) *The fundamental of nitrogen fixation*. University Press Cambridge.

Rangel J., Rodríguez M., Ferrera R., Castellanos J., Ramírez R., Alvarado E. (2011) Afinidad y Efecto de *Azospirillum* s.p. en maíz .En *Revista Agronomía Mesoamericana* 11 (2):269-279.2011 ISSN: 1021-7444 [Consulta 13.06.15].

Rojas G., Ramírez H. (1993) *Control hormonal del desarrollo de las plantas: fisiología, tecnología, experimentación*, 2da ed. , Edit. Limusa, México D.F.

Rodriguez B. , Sevillano G., Subramaniam P. (1984) *Fijación de nitrógeno atmosférico . Una biotecnología en la producción agraria*. Instituto de Recursos Naturales y agrobiología. Temas de divulgación. 1º edición en 1984.

Rodríguez E., Bolaños M., Menjivar J. (2010) *Efecto de las fertilizaciones química y orgánica y biofertilización en la nutrición y rendimiento del ají (Capsicum spp.) en el Valle del Cauca, Colombia* [En línea] Recuperado de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext &pid =S0120-28122010000100007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28122010000100007) [Consulta 09.11.14].

Sakakibara, H. 2006. Cytokinins: Activity, Biosynthesis, and Translocation. *Annual Review of Plant Biology*. 57:431-449

Santner, A.; Estelle, M. 2009. *Recent advances and emerging trends in plant hormone signaling*. *Nature*. 459:1071-1078

Saribay G. (2003) *Growth and nitrogen fixation dynamics of Azotobacter chroococcum nitrogen-free and own containing médium*. Tesis de Maestría en Ciencias Aplicadas. Departamento de Ingeniería de Alimentos. The Middle East Technical University. Turkia. p.1-45

Sepúlveda R. (2014) *Técnicas de producción de hortalizas. Universidad de Chile* [En línea] Recuperado de <http://es.slideshare.net/rairaimundo/cultivo-36484792> [Consulta 01.06.15].

Soleimanzadeh H., Gooshchi F. (2013) *Effects of Azotobacter and Nitrogen Chemical Fertilizer on Yield and Yield Components of Wheat (Triticum aestivum L.)*. [En línea] Recuperado de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.388.2566&rep=rep1&type=pdf> [Consulta 21.03.15].

Sridevi S., Ramakrishnan K. (2010) *Azospirillum on the growth and yield onion (Allum Cepa L.)*.

Srivastava, L. 2002. *Plant growth and development. Hormones and environment. London., UK. Academic Press Elsevier science. p.772*

Srivastava A., Ahamad S. (2003) *Screening of Potential Gibberellin Producing Fusarium Strains for The Hybrid Rice Production*. Food Agriculture & Environmental

Tarrand M., Krieg N. y Dobereiner J. (1994) *The genus Azospirillum*. In : n
*Krieg and J. Dobereiner (eds) Bergeys Manual Determinative
Bacteriology* 8 th. Eit. Williams and Wilkins, Baltimore.

Taiz L., Zeiger E.(2006) *Plant Physiology*,4ta ed. Editorial Sinauer, New
York.

Universidad Politécnica de Valencia (2013) *Parte III. Tema 14:*
Fitorreguladores [En línea] Recuperado de
[http://www.euita.upv.es/variados/biologia/temas/tema_14.htm#Efectos
fisiológicos producidos por las auxinas](http://www.euita.upv.es/variados/biologia/temas/tema_14.htm#Efectos_fisiologicos_producidos_por_las_auxinas). [Consulta 21.12.15].

Ueguchi-Tanaka M., Nakajima M., Motoyuki A., Matsuoka M. (2007)
Gibberellin receptor and its role in gibberellin signaling in plants.
Annual Review of Plant Biology. 58:183-98

Valderrama L., Herrada J. y Cuervo L. (2012) *Efecto de biopreparados
Azospirillum sp., Azotobacter Sp. y Trichoderma sp. como
estimuladores en la germinación de esquejes de caña de azúcar
(Saccharum Officinarum L.)* [En línea] Recuperado de
<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:UJpBH2x>

aukgJ:perkinsltda.com.co/articulos/05.pdf+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl
=pe [Consulta 7.04.15].

Vallejo F. & Estrada E. (2004) *Producción de hortalizas de clima cálido*.
Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira, Edit. Imágenes
Gráficas S.A., Palmira.

Vanegas J. (2014) *Desarrollo de consorcios de diazótrofos con actividad
promotora de crecimiento en plantas de arroz inundado y seco
en los departamentos del Tolima y Meta* [En línea] Recuperado de
[http://www.bdigital.unal.edu.co/8917/1/Javiervanegasguerrero.2012
.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/8917/1/Javiervanegasguerrero.2012.pdf) [Consulta 16.06.15].

Villa L., Mayek N., García J., Hernández J. (2014) *Efecto de la inoculación
en maíz con cepas nativas de Azospirillum sp . En Avances en
Investigación Agropecuaria 2014, 18 (1)* [En línea] Recuperado de
[http://www.redalyc.org/articulo.oa?id= 837297 89004](http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=837297_89004) [Consulta
26.08.15].

Villa L., Mayek N., García J., Hernández J. (2014) Efecto de la inoculación
en maíz con cepas nativas de AZospirillum sp . En Rev. *Avances*

en *Investigación* [En línea] Recuperado de
<http://www.redalyc.org/pdf/837/83729789004.pdf>[Consulta 9.07.15].

Weijers, D. y Jurgens, G. (2005) *Auxin and embryo axis formation: the ends in sight?* *Curr Opin Plant Biol*, 8, 32-37

Yamaguchi, S. (2008) Gibberellin metabolism and its regulation. *Annual Review Plant Biology*. 59:225-251

ANEXOS

Anexo 1. Fase de campo



Figura 1. Nivelación del suelo



Figura 2. Preparación de surcos



Figura 3. Fertilización con humus



Figura 4. Aplicación de riego tecnificado por goteo



Figura 5. Aplicación de riego tecnificado por goteo



Figura 6. Siembra de semillas de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”



Figura 7. Siembra de semillas de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”



Figura 8. Aplicación de inoculantes de *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp.



Figura 9: Formación de bulbos de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”



Figura 10. Tumbado de hojas de *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”



**Figura 11 . Cosecha de *Allium cepa* L. var. Amarilla
"Cebolla"**



**Figura 12. Cosecha *Allium cepa* L. var. Amarilla
"Cebolla"**

Anexo 2: Fase de laboratorio : *Azotobacter* sp.



Figura 13. Obtención de muestras de suelo de fanerógama para aislamiento de *Azotobacter* sp.



Figura 14. Obtención de muestras de suelo de fanerógama para aislamiento de *Azotobacter* sp.



Figura 15. Obtención de muestras de suelo de fanerógama para aislamiento de *Azotobacter* sp.








			<p> K_2HPO_4...0,5g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$...0,2g NaCl.....0,2g $FeSO_4$.....5,0mg Agar.....20,0g Manitol.....10g $CaCO_3$.....10g Agua.....1000 mL </p>
			
			

Figura 16 : Componentes del medio de cultivo ASBICH

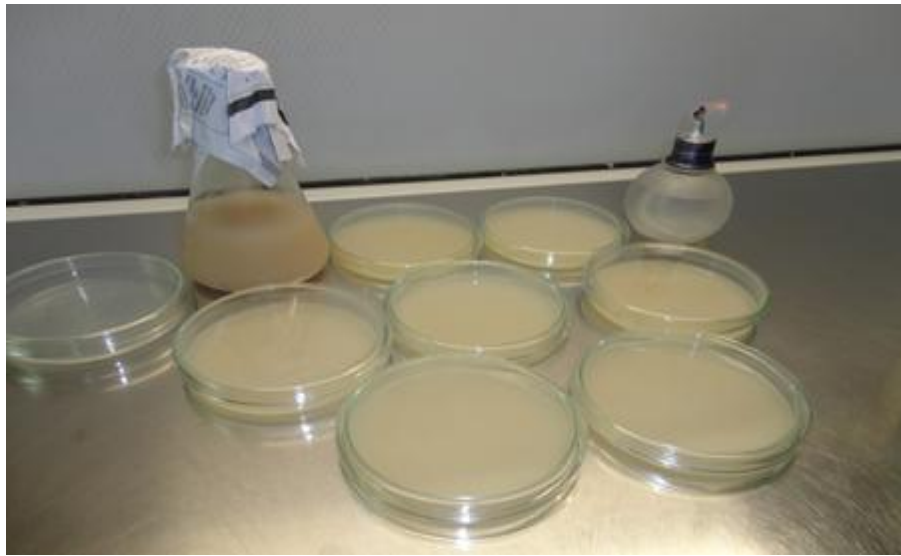


Figura 17. Material para el aislamiento de *Azotobacter* sp.



Figura 18. Toma de muestras de suelo



Figura 19. Siembra de suelo en medio ASBISH para obtención de cepas de *Azotobacter* sp.



Figura 20. Muestra de suelo en medio ASBISH

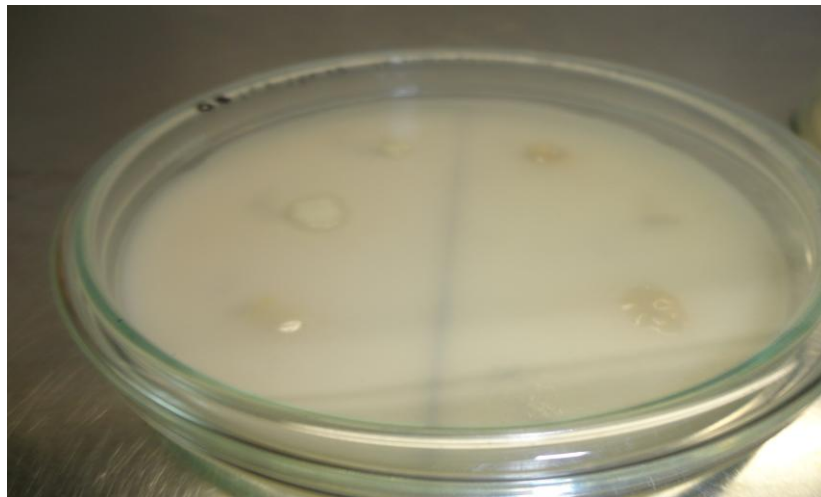


Figura 21. Desarrollo de colonias de *Azotobacter* sp. para la producción de biomasa bacteriana

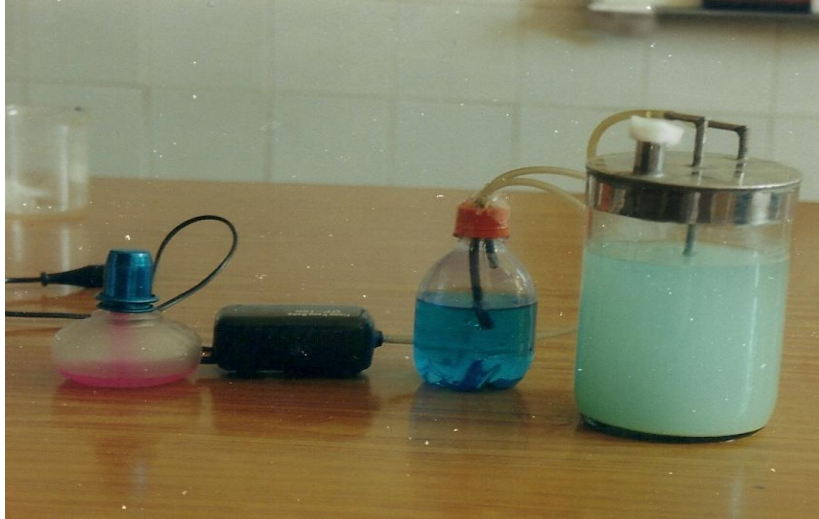


Figura 22. Inoculante de *Azotobacter* sp.

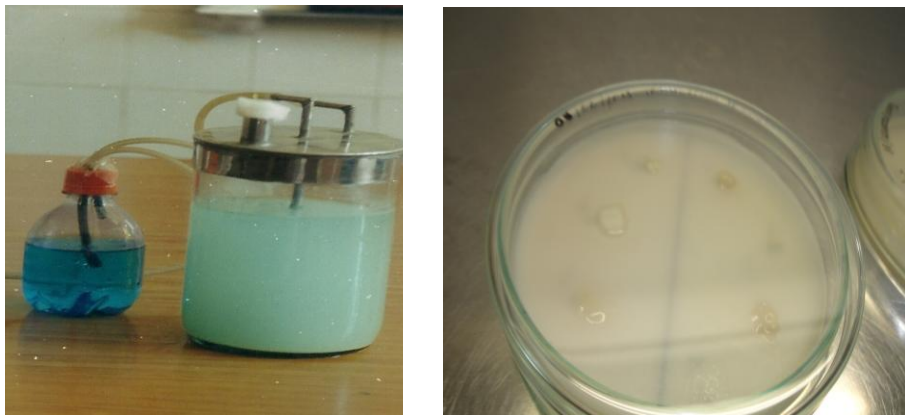


Figura 23. Biomasa bacteriana en caldo ASBISH para la aplicación en *Allium cepa* L. var. Amarilla “Cebolla”



Figura 24. Coloración Gram de *Azotobacter* sp

Anexo 3 : Fase de laboratorio : *Azospirillum* sp.



Ácido málico	5 g
KOH	4 g
K ₂ HPO ₄	4 0,5 g
FeSO ₄ •7H ₂ O	trazas
MnSO ₄ •7H ₂ O	0,01 g
MgSO ₄ •7H ₂ O	0,01 g
NaCl	0,02 g
CaCl ₂	0,01 g
Na ₂ MoO ₄	0,002 g
Azul de bromotimol(0,5 % m/v en etanol)	2 ml
Biotina	0,1 mg
Agua desionizada	1000 ml
Dextrosa	10 g

Figura 25: Componentes del medio de cultivo NFB (Aislamiento de *Azospirillum* sp.)

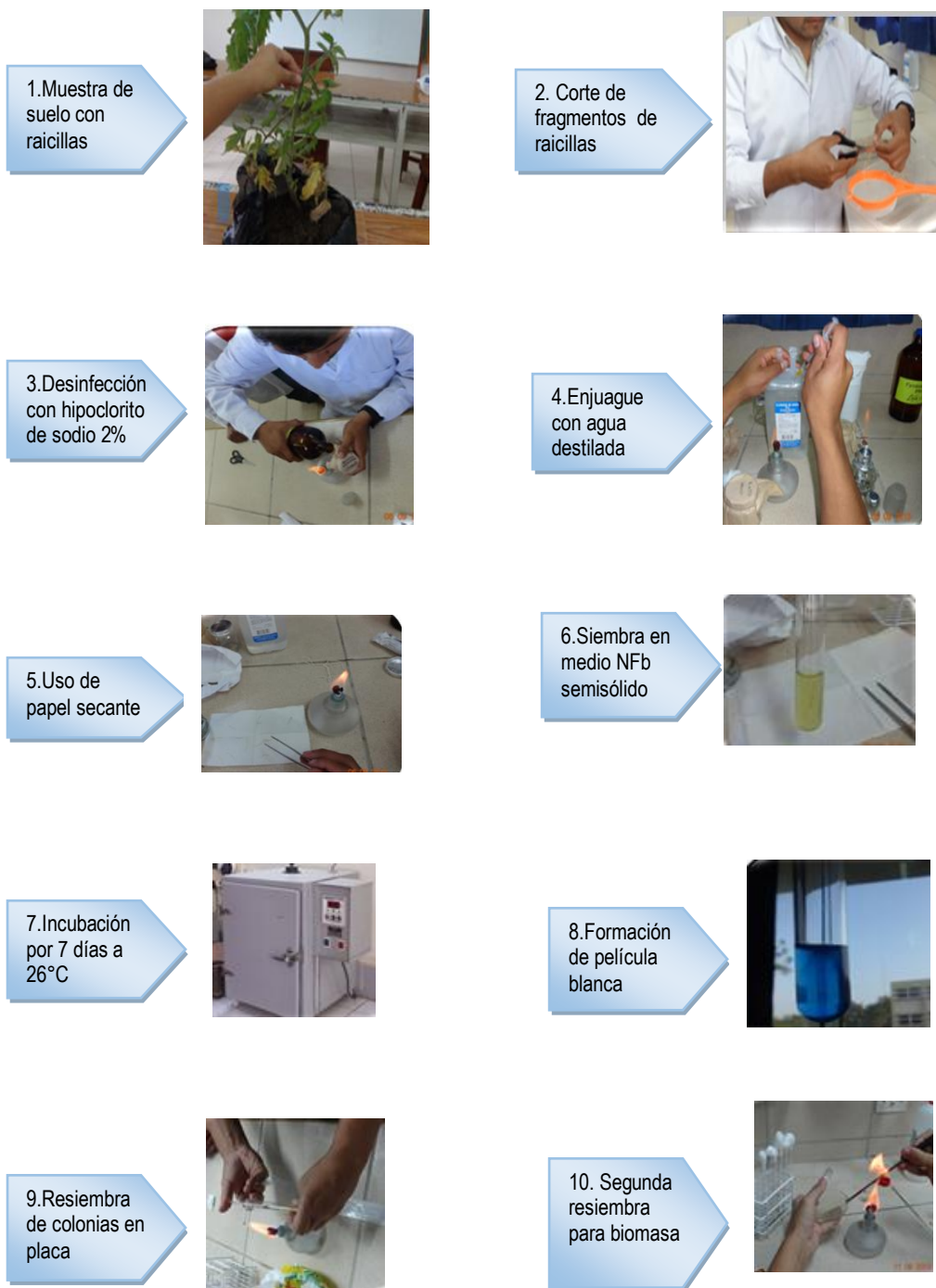


Figura 26 : Aislamiento de *Azospirillum* sp.

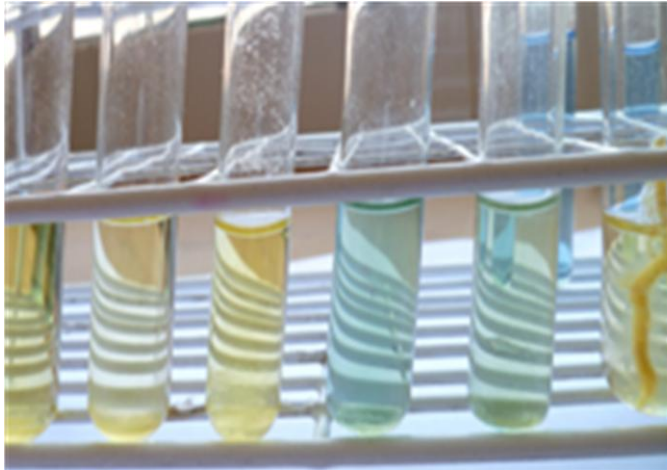


Figura 27: Aislamiento de *Azospirillum* sp. en medio NFB semisólido



Figura 28 : Formación de capa fina de *Azospirillum* sp. en medio NFB semisólido



Figura 29 : Colonias de *Azospirillum sp.* en Agar NFb



Figura 30. Caldo NFb para la producción de biomasa microbiana de *Azospirillum sp.*

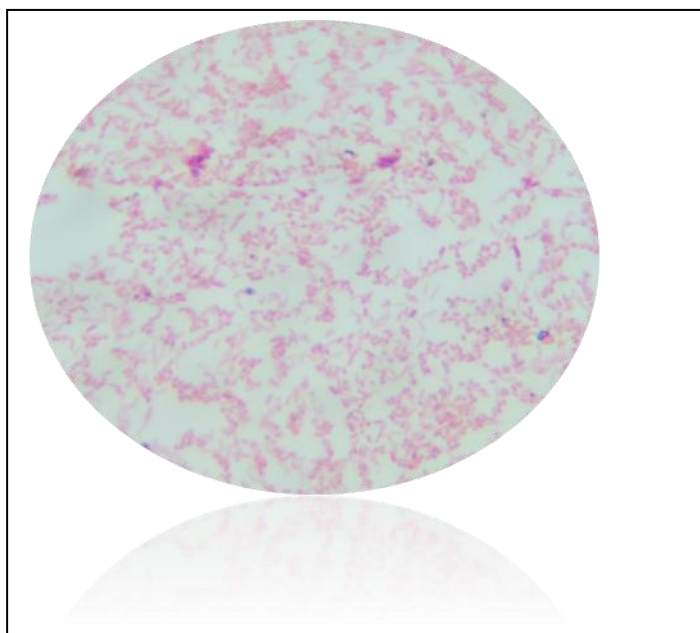


Figura 31. Coloración Gram *Azospirillum* sp.

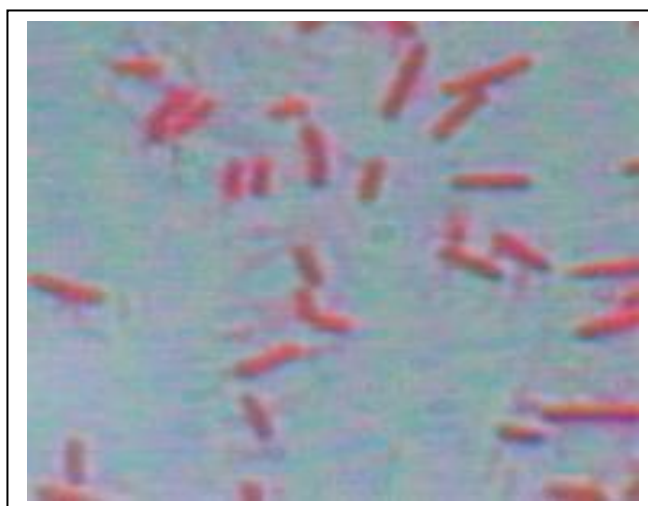


Figura 32. Coloración Gram *Azospirillum* sp.

Anexo 4. Informe de Ensayo N° DT 06867-01-2012



Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

JR. ALMIRANTE GUISE N° 2580 - 2586 / LIMA 14 - PERÚ TELEFÓNO: 206-9280
E-mail: satperu@satperu.com / Página web: www.satperu.com

INFORME DE ENSAYO N° DT 06867-01-2012

PRODUCTO : Cebolla
SOLICITADO POR : Isabel Ancco Oliva
DIRECCION : Ramon Castilla N° 250 - Cercado - Tacna
FECHA DE RECEPCION : 2012-09-12
FECHA DE ANALISIS : 2012-09-13
FECHA DE INFORME : 2012-09-15
SOLICITUD N° : SDT-11432-2012

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA : To. Cebolla sola sin tratamiento
Muestra: Allium cepa L. Variedad texas
ESTADO / CONDICION : Producto crudo entero / Temperatura Ambiente
PRESENTACION : Malla de polietileno color amarillo, con etiqueta
CANTIDAD DE MUESTRA : 200 Gramos
CANTIDAD DE MUESTRA DIRIMENTE : Ninguna (a solicitud del cliente)

Servicio	Via / Resultado
(*) Fósforo (mg/100g)	43.42
(*) Nitrógeno (g/100g)	0.21

(*) LOS METODOS INDICADOS NO HAN SIDO ACREDITADOS POR INDECOPI-SNA

MÉTODOS

(*) Fósforo : AOAC 984.24 (2005) Cap. 50, Ed. XVIII, Pág. 13 y 14. Phosphorus in Infant Formula and Enteral Products. Spectrophotometric method.
(*) Nitrógeno : AOAC 920.152 (2005) Cap. 37, Ed. XVIII, Pág. 10. Protein in fruit products. Kjeldahl Method

- Referencia: Solicitud de Servicio a Terceros N° 120100427

- Informe de ensayo emitido en base a resultados obtenidos en nuestro laboratorio. Valido unicamente para la muestra proporcional. Queda absolutamente prohibida toda reproducción parcial del presente informe sin la autorización escrita de SAT S.A.C. Este documento es válido solo en original.

QUIM. CLOTLILDE HUAPAYA H
JEFE DIVISION TECNICA
C.Q.P N° 296



Anexo 5. Informe de Ensayo N° DT 06867-02-2012



Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

JR. ALMIRANTE GUISSÉ N° 2580 - 2586 / LIMA 14 - PERÚ TELEFÓNO: 206-9280
E-mail: satperu@satperu.com / Página web: www.satperu.com

INFORME DE ENSAYO N° DT 06867-02-2012

PRODUCTO : Cebolla
SOLICITADO POR : Isabel Ancco Oliva
DIRECCION : Ramon Castilla N° 250 – Cercado - Tacna
FECHA DE RECEPCION : 2012-09-12
FECHA DE ANALISIS : 2012-09-13
FECHA DE INFORME : 2012-09-15
SOLICITUD N° : SDT-11432-2012

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA : T1. Cebolla sola + Azotobacter sp.
Muestra: Allium cepa L. Variedad texas
ESTADO / CONDICION : Producto crudo entero / Temperatura Ambiente
PRESENTACION : Malla de polietileno color amarillo, con etiqueta
CANTIDAD DE MUESTRA : 200 Gramos
CANTIDAD DE MUESTRA DIRIMENTE : Ninguna (a solicitud del cliente)

Servicio	Vía / Resultado
(*) Fósforo (mg/100g)	48,19
(*) Nitrógeno (g/100g)	0,20


(*) LOS METODOS INDICADOS NO HAN SIDO ACREDITADOS POR INDECOPI-SNA

MÉTODOS

(*) Fósforo : AOAC 986.24 (2005) Cap. 50, Ed. XVIII, Pág. 13 y 14, Phosphorus in Infant Formula and Enteral Products. Spectrophotometric method.
(*) Nitrógeno : AOAC 920.152 (2005) Cap. 37, Ed. XVIII, Pág. 10, Protein in fruit products. Kjeldahl Method

- Referencia: Solicitud de Servicio a Terceros N° 120100427

- Informe de ensayo emitido en base a resultados obtenidos en nuestro laboratorio. Valido únicamente para la muestra proporcionada. Queda absolutamente prohibida toda reproducción parcial del presente informe sin la autorización escrita de SAT S.A.C. Este documento es válido solo en original.


QUIM. CLOTILDE HUAPAYA H.
JEFE DIVISION TECNICA
C.Q.P N° 296



Anexo 6. Informe de Ensayo N° DT 06867-03-2012



Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.
 JR. ALMIRANTE GUISSÉ N° 2580 - 2586 / LIMA 14 - PERÚ TELÉFONO: 206-9280
 E-mail: satperu@satperu.com / Página web: www.satperu.com

INFORME DE ENSAYO N° DT 06867-03-2012

PRODUCTO : Cebolla
 SOLICITADO POR : Isabel Ancco Oliva
 DIRECCION : Ramon Castilla N° 250 – Cercado - Tacna
 FECHA DE RECEPCION : 2012-09-12
 FECHA DE ANALISIS : 2012-09-13
 FECHA DE INFORME : 2012-09-15
 SOLICITUD N° : SDT-11432-2012

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA : T2. Cebolla sola + Azospirillum sp.
 Muestra: Allium cepa L. Variedad texas
 ESTADO / CONDICION : Producto crudo entero / Temperatura Ambiente
 PRESENTACION : Malla de polietileno color amarillo, con etiqueta
 CANTIDAD DE MUESTRA : 200 Gramos
 CANTIDAD DE MUESTRA DIRIMENTE : Ninguna (a solicitud del cliente)

Servicio	Via / Resultado
(*) Fósforo (mg/100g)	64.31
(*) Nitrogeno (g/100g)	0.29

(*) LOS METODOS INDICADOS NO HAN SIDO ACREDITADOS POR INDECOPI-SNA

MÉTODOS
 (*) Fósforo : AOAC 984.24 (2005) Cap. 50, Ed. XVIII, Pág. 13 y 14. Phosphorus in Infant Formula and Enteral Products. Spectrophotometric method.
 (*) Nitrogeno : AOAC 920.152 (2005) Cap. 37, Ed. XVIII, Pág. 10. Protein in fruit products. Kjeldahl Method

- Referencia: solicitud de Servicio al Tercero N° 120100427
 - Informe de ensayo emitido en base a resultados obtenidos en nuestro laboratorio. Valido unicamente para la muestra proporcionada. Queda absolutamente prohibida toda reproducción parcial del presente informe sin la autorización escrita de SAT S.A.C. Este documento es válido solo en original.


QUILTE CLOTILDE HUAPAYA H.
 JEFE DIVISION TECNICA
 C.Q.P N° 296



- PAG. 1 DE 1 -
F-DT-22 / Octubre 2011

CopyRight © 2010, SIGEL – informes@wbsperu.com

Anexo 7. Informe de Ensayo N° DT 06867-04-2012



Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

JR. ALMIRANTE GUISSÉ N° 2580 - 2586 / LIMA 14 - PERÚ TELEFONO: 206-9280
E-mail: satperu@satperu.com / Pagina web: www.satperu.com

INFORME DE ENSAYO N° DT 06867-04-2012

PRODUCTO : Cebolla
SOLICITADO POR : Isabel Ancco Oliva
DIRECCION : Ramon Castilla N° 250 - Cercado - Tacna
FECHA DE RECEPCION : 2012-09-12
FECHA DE ANALISIS : 2012-09-13
FECHA DE INFORME : 2012-09-15
SOLICITUD N° : SDT-11432-2012

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA : T3. Cebolla + Azotobacter sp. + Azospirillum sp.
Muestra: Allium cepa L. Variedad Texas
ESTADO / CONDICION : Producto crudo entero / Temperatura Ambiente
PRESENTACION : Malla de polietileno color amarillo, con etiqueta
CANTIDAD DE MUESTRA : 200 Gramos
CANTIDAD DE MUESTRA DIRIMIENTE : Ninguna (a solicitud del cliente)

Servicio	Via / Resultado
(*) Fosforo (mg/100g)	54,84
(*) Nitrogeno (g/100g)	0,25

(*) LOS METODOS INDICADOS NO HAN SIDO ACREDITADOS POR INDECOPI-SNA

MÉTODOS : AOMAC 986-24 (2005) Cap. 50, Ed. XVIII, Pág. 13 y 14. Phosphorus In Infant Formula and Enteric Products. Spectrophotometric method.
(*) Fosforo : AOMAC 920-132 (2005) Cap. 37, Ed. XVIII, Pág. 10. Protein in fruit products. Kjeldahl Method
(*) Nitrogeno

Referencia Solicitud de Servicio a Terceros N° 120100427
Informe de ensayo emitido en base a resultados obtenidos en nuestro laboratorio. Valido unicamente para la muestra proporcionada. Queda expresamente prohibida toda reproducción parcial del presente informe sin la autorización escrita de SAT S.A.C. Este documento es válido solo en original.

QUIM. CLORE DE HUAPAYA H.
JEFE DIVISION TECNICA
C.Q.P N° 296



Anexo 8. Informe de Ensayo N° 11057A/12

Intertek

INFORME DE ENSAYO N° 11057A/12

ITS REF.: PER/4575-12

CLIENTE : ISABEL ANCCO OLIVA
DIRECCION : Ramón Castilla 250 - Cercado - Tacna
DESCRIPCION DE LA MUESTRA⁽⁹⁾ : SUELO
INFORMACION DE LA MUESTRA
IDENTIFICACION : Solicitud de servicio a terceros N° 120100402
CANTIDAD : Una muestra (1 kg Aprox)
PRESENTACION : Bolsa plástica
PROCEDECENCIA : Muestra proporcionada por el cliente
FECHA DE RECEPCION EN EL LAB. : 23 de Agosto del 2012
FECHA DE ANALISIS : 25 al 27 de Agosto del 2012
REF. LAB : 11530A/12

ENSAYO	UNIDADES	RESULTADOS
pH (25°C)	---	5,40
Materia organica	%	1,57
Textura		
Arena	%	58
Arcilla	%	12
Limo	%	30
Clase Textural	---	Franco - Arenosa

METODOS DE ENSAYO

pH	METHODS OF SOIL ANALYSIS PART 3 CHEMICAL METHODS SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICAN 2007. Soil pH and Soil Acidity, Chapter 16. Pag. 475/490
Materia organica	ICB 018(08) Determinación de Materia Orgánica en Suelos
Textura	ICB-026 (08) Determinación de Textura en los Suelos.

(9) Según lo indicado por el cliente

Notas:

- Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente sin la aprobación por escrito de INTERTEK TESTING SERVICES PERU S.A.
- Los resultados de los ensayos emitidos en el presente informe solo son válidos para la muestra indicada y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
- La información contenida en este informe esta basada en pruebas de laboratorio y observaciones realizadas por Intertek Testing Services Perú S.A. La muestra fue enviada por el cliente solo para análisis.
En los casos, donde nosotros no podemos acreditar la procedencia de la muestra, Intertek Testing Services Perú S.A. renuncia a cualquier responsabilidad por daño o lesión que puede resultar por el uso de la información contenida en este informe, y nada de lo contenido debe ser constituido como una garantía o representación por Intertek Testing Services Perú S.A. con respecto a la exactitud de la información, la muestra, producto o ítem descrito, o su adecuación de uso para cualquier propósito específico.
- Todos los servicios se encuentran sujetos a los términos y condiciones del servicio declarados en la página www.intertek-cb.com/termsandconditions.

Lima, 28 de Agosto del 2012


 Quija Silvia Quevedo B.
SIGNATARIO AUTORIZADO
 Supervisor de Físicoquímica
 CQP 532

/kv

Página 1 de 1

Rev. 05 / Sep. 09

FPER/036A/L

Intertek Testing Services Perú S.A.
 Av. Universitaria N° 1045 - San Miguel, LIMA - PERU / Main Phone: (511) 562-0022
 Fax: (511) 562-0015 e-mail: intertekperu@intertek.com / Web Site: <http://www.intertek.com>

Anexo 9. Informe de Ensayo N° 4707A/12

Intertek

INFORME DE ENSAYO N° 4707A/12

ITS REF.: PER/1820-12

CLIENTE : ISABEL ANCCO OLIVA
DIRECCION : Ramon Castilla 250 - Cercado - Tacna
DESCRIPCION DE LA MUESTRA (a) : **SUELO**
INFORMACION DE LA MUESTRA :
IDENTIFICACION : SOL DE SEV. A TERCEROS N°: 120100203
CANTIDAD : Una muestra (1 kg)
PRESENTACION : Bolsa plástica
PROCEDECENCIA : Muestra Proporcionada por el Cliente
FECHA DE RECEPCION EN EL LAB. : 17 de Abril del 2012
FECHA DE ANALISIS : 18 al 26 de Abril del 2012
REF. LAB : 4710A/12

ENSAYOS	UNIDADES	RESULTADOS
pH (25 °C)	---	4,96
Nitrogeno total	% (m/m)	0,08
Materia Organica	%	1,62
Fósforo disponible	mg/kg	95,84
Potasio disponible	mg/kg	517,51
Determinación del contenido de humedad	% (m/m)	2,02
TEXTURA		
Arena	%	45,30
Limo	%	47,60
Arcilla	%	7,11

METODOS DE ENSAYO

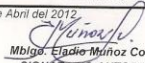
PH	Manual para el analisis quimico de suelos, agua, plantas. 1996.Pag. 8. Determinación del pH de los suelos.
Nitrogeno total	Manual para el analisis quimico de suelos, agua, plantas. 1996.Pag. 16. Determinación del nitrogeno en los suelos.
Materia Organica	ICB - 018(08) - Determinación de Materia Organica en Suelos.
Fósforo disponible	ICB - 017 (08)- Determinación de Fosforo en Follares y Suelos.
Potasio disponible	ICB - 023 (08)- Determinación de Calcio, Magnesio, Sodio y Potasio en Suelos, Plantas y Aguas.
Determinación del contenido de humedad	Ruben Bazan T. Manual para el analisis quimico sección 2.p.2.1996. Determinación del contenido de humedad.
Textura	ICB -026(08)-Determinación de la Textura en los Suelos.

(a) Según lo indicado por el cliente

Notas:

- Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente sin la aprobación por escrito de INTERTEK TESTING SERVICES PERU S.A.
- Los resultados de los ensayos embidos en el presente informe solo son válidos para la muestra indicada y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
- La información contenida en este informe esta basada en pruebas de laboratorio y observaciones realizadas por Intertek Testing Services Perú S.A. La muestra fue enviada por el cliente sólo para análisis.
En los casos, donde nosotros no podemos acreditar la procedencia de la muestra, Intertek Testing Services Perú S.A. renuncia a cualquier responsabilidad por daño o lesión que puede resultar por el uso de la información contenida en este informe, y nada de lo contenido debe ser constituido como una garantía o representación por Intertek Testing Services Perú S.A. con respecto a la exactitud de la información, la muestra, producto o ítem descrito, o su adecuación de uso para cualquier propósito específico.
- Todos los servicios se encuentran sujetos a los términos y condiciones del servicio declarados en la página www.intertek-cb.com/termsandconditions.

Lima, 26 de Abril del 2012


Mbgia Eladio Muñoz Contreras
SIGNATARIO AUTORIZADO
 Jefe de Laboratorio AGRI
 CBP 1516

KV
Rev. 05 / Sep. 09

Intertek Testing Services Perú S.A.

Av. Universitaria N° 1045 - San Miguel, LIMA - PERU / Main Phone: (511) 562-0022
 Fax: (511) 562-0015 e-mail: intertekperu@intertek.com / Web Site: <http://www.intertek.com>


ORIGINAL 1
Página 1 de 1
FPER/036AVL

Anexo 10. Biosystem Report 16S/18S nT Report (1/3)

11/9/2015 Biosystem Report


> 16S/18S nT Report

User ID : robertcastel Close Back

Job No.	Job Type	Run Date	Rx n#	Schedule	Data Download
BI150223-036	16S/18S nT	2015-02-23	2	Quality Trimming → Reverse Complement → FR Contig → BlastN (BLAST DB)	 CONTIG BLAST REPORT

Comment

This is the final analysis report.
Please fill out the survey. It will inspire us to provide you better service.

Questionnaire 

We always want to provide you with high-quality sequencing service, and your precious feedback about this job, BI150223-036 will be highly appreciated.
This information shall be used to enhance our system, thus enabling better service for you next time.

Please note that your message here won't be replied, but surely read by our representatives and used for establishing better system.

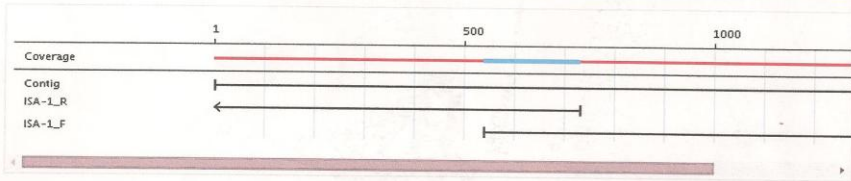
You may leave comments

Submit

Contig

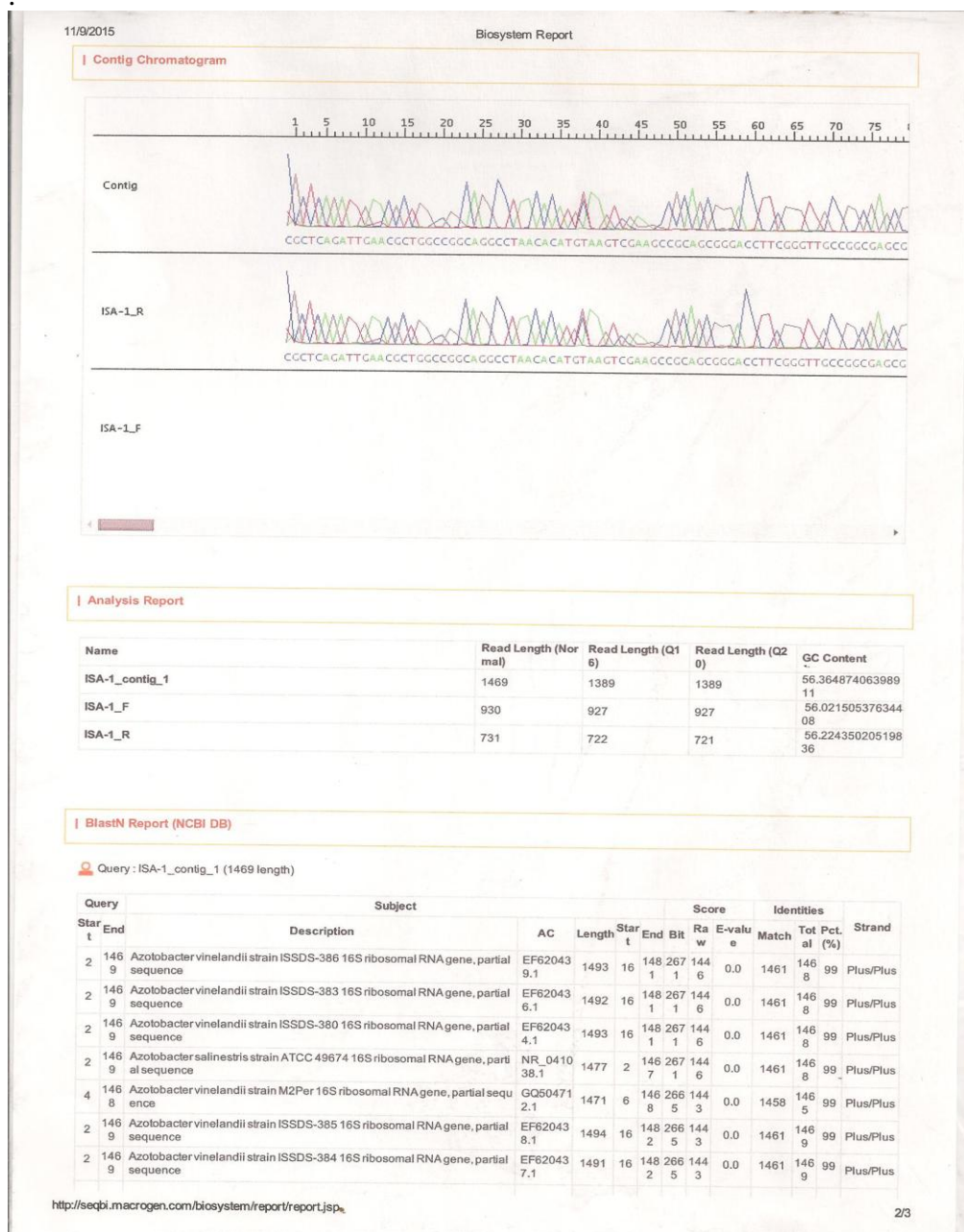
Contig #	1
Contig Name	ISA-1_contig_1

Contig Align Information

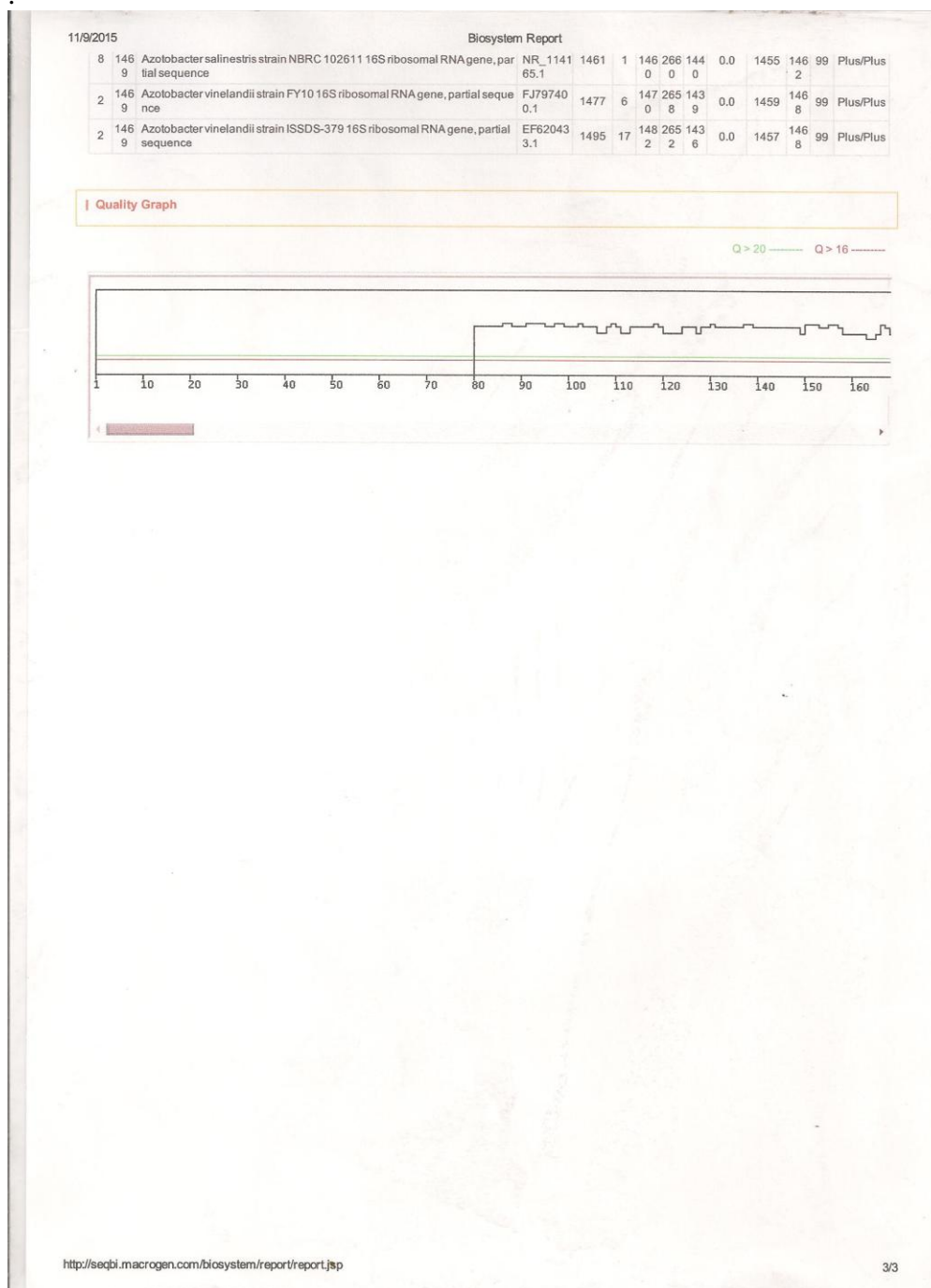


http://seqbi.macrogen.com/biosystem/report/report.jsp 1/3

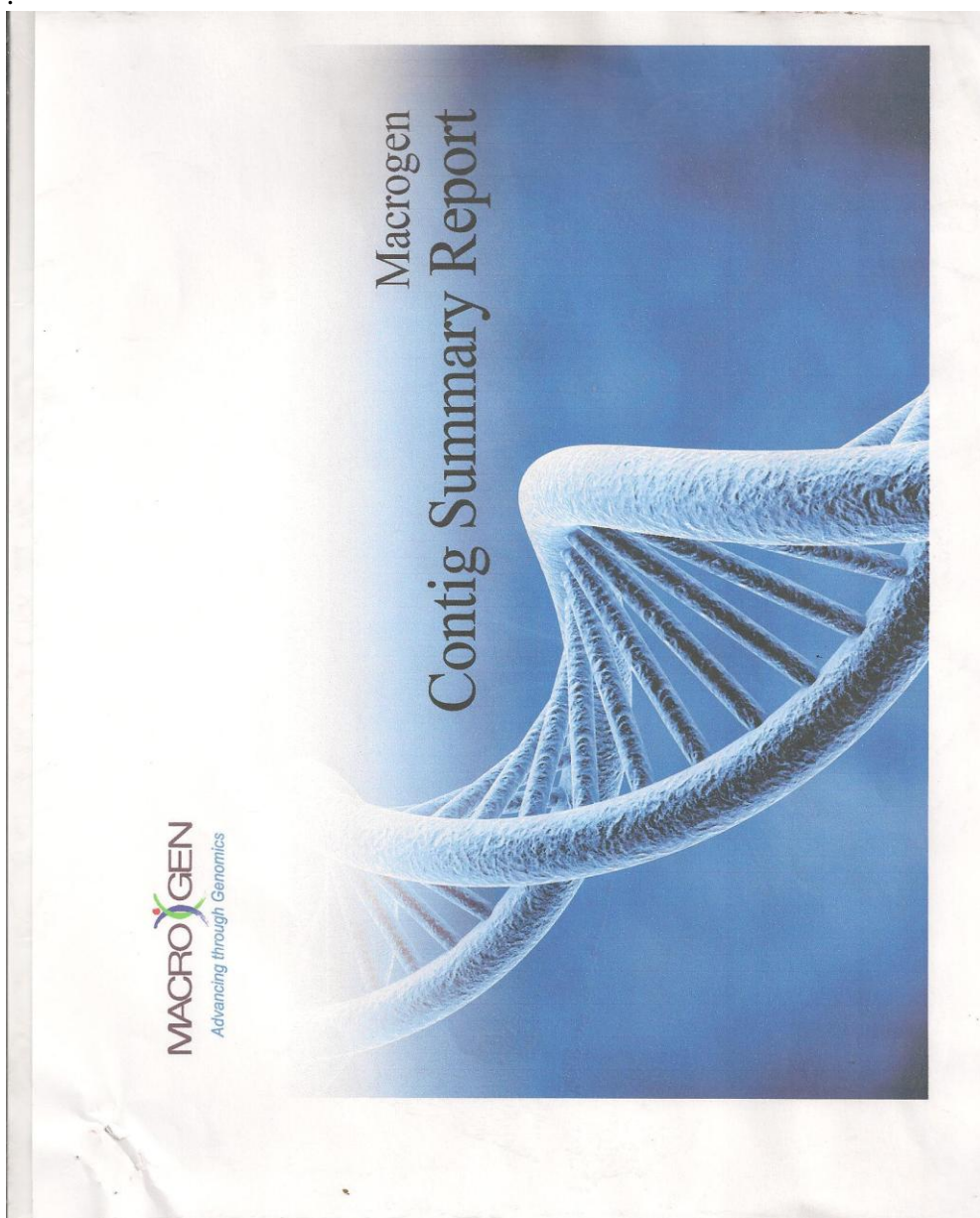
Anexo 11. Biosystem Report 16S/18S nT Report (2/3)



Anexo 12. Biosystem Report 16S/18S nT Report (3/3)



Anexo 13. Macrogen Contig Summary Report



Anexo 14. Analysis Report : ISA-1_contig_1 Report

::: ISA-1_contig_1 Report ::::::::::::::::::::::::::::

I. Analysis Report

Name	Read Length (Normal)	Read Length (Q16)	Read Length (Q20)	GC Content
ISA-1_contig_1	1469	1389	1389	56.36487406398911
ISA-1_F	930	927	927	56.02150537634408
ISA-1_R	731	722	721	56.22435020519836

Anexo 15. BlastN Report

2. BlastN Report

- Query name : ISA_1_contig_1
- Query length : 1469

Query		Subject				Score			Identities			Strand	
Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EY	Match	Total	Pct.(%)	
2	1469	Azotobacter vinelandii strain ISSDS EF620439.1 -386 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	EF620439.1	1493	16	1481	2671	1446	0.0	1461	1468	99	Plus/Plus
2	1469	Azotobacter vinelandii strain ISSDS EF620436.1 -383 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	EF620436.1	1492	16	1481	2671	1446	0.0	1461	1468	99	Plus/Plus
2	1469	Azotobacter vinelandii strain ISSDS EF620434.1 -380 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	EF620434.1	1493	16	1481	2671	1446	0.0	1461	1468	99	Plus/Plus
2	1469	Azotobacter salinestris strain ATCC 49711 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	NR_041038.1	1477	2	1467	2671	1446	0.0	1461	1468	99	Plus/Plus
4	1468	Azotobacter vinelandii strain M2Per 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	GQ304712.1	1471	6	1468	2665	1443	0.0	1458	1465	99	Plus/Plus
2	1469	Azotobacter vinelandii strain ISSDS EF620438.1 -385 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	EF620438.1	1494	16	1482	2665	1443	0.0	1461	1469	99	Plus/Plus
2	1469	Azotobacter vinelandii strain ISSDS EF620437.1 -384 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	EF620437.1	1491	16	1482	2665	1443	0.0	1461	1469	99	Plus/Plus
8	1469	Azotobacter salinestris strain NBRC 102611 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	NR_114165.1	1461	1	1460	2660	1440	0.0	1455	1462	99	Plus/Plus
2	1469	Azotobacter vinelandii strain FY10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	FJ797400.1	1477	6	1470	2658	1439	0.0	1459	1468	99	Plus/Plus
2	1469	Azotobacter vinelandii strain ISSDS EF620433.1 -379 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	EF620433.1	1495	17	1482	2652	1436	0.0	1457	1468	99	Plus/Plus