

Efecto promotor del crecimiento de plántulas de *Capsicum annuum* “PÁPRIKA” por bacterias diazotróficas nativas aisladas del suelo de cultivo de olivo de la Yarada-Tacna

Promoting effect of the growth of Capsicum annuum “PAPRIKA” seedlings by isolated native diazotrophic bacteria from the olive cultivation soil of la Yarada-Tacna

Jhon Albert Centeno Torres¹

ORCID: 0000-0002-0035-4592

Resumen

Se evaluaron 19 cepas bacterianas diazotróficas nativas, obtenidas del cepario del laboratorio de microbiología del CITE- agroindustrial de Tacna, aisladas del suelo de cultivo de olivo. Estas cepas se reactivaron en medio mineral sin nitrógeno hasta obtener una biomasa de aproximadamente 108 microorganismos/mL. Se sembraron las semillas en bolsas conteniendo turba estéril, se tomaron 3 bolsas por tratamiento; los cultivos de las 19 cepas fueron inoculados en un volumen de 10 mL y se consideraron tratamientos controles del medio mineral sin nitrógeno estéril, Azotolam (inoculante comercial) y propágulos de micorrizas. Después de 60 días de cultivo, se midieron altura de la planta (cm), biomasa seca aérea (g) y biomasa seca radicular (g). Se evaluaron los resultados mediante análisis de varianza y diferencia de medias con DUNCAN. Se encontró que la cepa de *Azotobacter vinelandii* produce un efecto promotor del crecimiento radicular y aérea en comparación del control sin inóculo. La cepa de *Novosphingobium* sp. fue entre las mejores que produjo un mejor crecimiento de la planta tanto en biomasa seca aérea y altura de la planta. Por lo tanto, ambas cepas pueden ser consideradas como alternativas sustentables para la aplicación en campos de cultivo como inoculantes que mejoran el crecimiento de las plantas.

Palabras clave: *Azotobacter vinelandii*, bacterias diazotróficas, *Capsicum annuum* (páprika), izobacteria promotora del crecimiento vegetal (RPCV), *Novosphingobium* sp.

Abstract

*Nineteen native diazotrophic bacterial strains obtained from microbiology laboratory strain collection of the CITE-agroindustrial of Tacna isolated from the soil of olive cultivation were evaluated. These strains were reactivated in mineral medium without nitrogen until a biomass of approximately 108 microorganisms/mL. The seeds were sown in bags containing sterile peat, 3 bags per treatment were taken, the cultures of the 19 strains were inoculated in a volume of 10 mL and of the mineral medium without sterile nitrogen, Azotolam (commercial inoculant) and propagules of mycorrhizae were considered us control treatments. After 60 days of cultivation, plant height (cm), aerial dry biomass (g) and root dry biomass (g) were measured. The results were evaluated by analysis of variance and mean differences with DUN- CAN. It was found that the *Azotobacter vinelandii* strain produces a promoting effect on root and aerial growth compared to the control without inoculum. The strain of *Novosphingobium* sp. it was among the best*

¹ Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú. E-mail: jhon.centeno.26@gmail.com. Magister en Ciencias de la Ingeniería

that produced better plant growth both in aerial dry biomass and plant height. Therefore, both strains can be considered as sustainable alternatives for application in crop fields as inoculants that improve the growth of plants.

Keywords: *Azotobacter vinelandii*, diazotrophic bacteria, *Capsicum annuum* (paprika), Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), *Novosphingobium* sp.

Introducción

Actualmente, la gran mayoría de cultivos agrícolas de Tacna y el Perú depende de los fertilizantes químicos sintetizados, los cuales proporcionan nutrientes asimilables por las plantas, buscando optimizar los procesos de producción. El uso indiscriminado de fertilizantes químicos ocasiona contaminación de cuerpos de agua y suelos, sumando al incremento de los costos de producción y el impacto negativo en la salud animal y humana. Por esto, el uso de agricultura orgánica, tecnologías limpias y seguras, han hecho que los biofertilizantes se conviertan en una gran alternativa para disminuir estos inconvenientes. El empleo de cepas de microorganismos con un alto potencial de acción sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas y el estudio de la diversidad biológica de sus patógenos son factores clave en su control y, por tanto, en el manejo integral de los cultivos (Olalde y Aguilera, 1998). El suelo es un ecosistema de enorme riqueza microbiana.

Los estudios sobre los microorganismos del suelo son numerosos, sin embargo, hasta la fecha no se ha determinado completamente la biodiversidad necesaria, en lo que se refiere a microorganismos, para que un suelo agrícola funcione de manera óptima (Stewart, 1991). En la actualidad, se han identificado los significados funcionales de grupos particulares de microorganismos que afectan la productividad de las plantas en el contexto agrícola; actividades como la fijación de nitrógeno, degradación de celulosa, solubilización de fosfatos, interacción con otros microorganismos y control biológico (Ogata, Arellano y Zúñiga, 2008).

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto promotor del crecimiento vegetal de cepas bacterianas diazotróficas nativas en el crecimiento de plántulas de páprika a nivel de invernadero.

Metodología

Producción de los inóculos de cepas bacterianas diazotróficas identificadas

Se reactivaron 19 cepas bacterianas identificadas del cepario del laboratorio del Cite- Agroindustrial de Tacna, en placas con medio mineral sin nitrógeno (MMSN) y se incubaron a 28 °C durante 48 horas. Posteriormente a la incubación, se agregaron 5 mL de solución salina fisiológica al 0,85 % de NaCl a cada placa, para la remoción de las colonias. Los inóculos obtenidos fueron pasados independientemente a 100 mL de MMSN con Azul de bromotimol contenidos en matraces de 250 mL. Estos matraces fueron incubados a 28 °C durante 48 horas. Luego de la incubación, se realizó el recuento en cámara de Neubauer debiendo llegar a la concentración recomendada de 108 microorganismos/mL.

Siembra en la turba estéril e inoculación de bacterias diazotróficas a las semillas de páprika

Se utilizó la turba seca estéril como soporte para las semillas de páprika. Se adicionó agua destilada estéril para humedecer la turba estéril en una proporción de 1:3 (agua destilada estéril: turba estéril). Luego de la hidratación, se distribuyó la turba en bolsas de polipropileno en una cantidad de 200 gramos por cada bolsa. Posteriormente, se colocaron 3 semillas de páprika por bolsa.

Se inocularon 19 tratamientos por tres repeticiones con 10 mL de sus respectivos cultivos bacterianos. Para el primer tratamiento control únicamente se adicionó 10 mL del MMSN estéril a cada una de las tres bolsas. El segundo tratamiento control, el cual corresponde a la Endomicorriza *Glomus* sp., se pesó 1 gramo de los gránulos de arcilla conteniendo 400 Propágulos Infecciosos de Micorriza (PIM) y se agregó a unos 2 cm por debajo de la semilla, según el método utilizado por Vilca (2008). En el tercer tratamiento control, el cual corresponde al inoculante comercial Azotolam, se pesaron 10 gramos del inoculante comercial y se agregó directamente a la semilla, se realizaron tres repeticiones. Posteriormente, cada bolsa fue etiquetada correctamente. El riego realizado fue mediante el uso de agua corriente cada 72 horas. Luego de 15 días, cuando las plantas presentaron un tamaño regular, se procedió al raleo; se dejó una sola planta por bolsa para permitir un mejor crecimiento. Se realizó una segunda inoculación de las 19 cepas bacterianas diazotrficas a los 30 días de la primera inoculación. Finalmente, se realizó la evaluación del efecto promotor del crecimiento vegetal a los 60 días de la siembra de las semillas de páprika.

Criterios de evaluación del efecto promotor del crecimiento de páprika a nivel de invernadero (Nuez *et al.*, 1996)

La evaluación del crecimiento de las plántulas de páprika se realizó a los 60 días de cultivo. La altura de la planta se midió con un vernier desde la base hasta el ápice de la planta. Además, para la medición de la biomasa radicular seca y biomasa aérea seca de páprika, se cortaron las plántulas desde la base del tallo y se extrajo la raíz cuidadosamente, luego se lavó con agua corriente hasta eliminar toda la turba y se secó con papel absorbente. Tanto la parte aérea y radicular fueron colocadas en placas de Petri de 10x100 mm de peso conocido (W_p), y se llevó a la estufa a 80 °C por 3 días hasta obtener un peso constante. Para la obtención del peso seco (W), se utilizó la fórmula (R) y los resultados se expresaron en gramos.

$$R: \text{Biomasa radicular seca a area seca} = W - W_p$$

Donde:

W: Peso seco de la raíz o aérea + Peso de la placa Petri

W_p: Peso de la placa Petri

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de los criterios de evaluación realizados fueron procesados estadísticamente mediante el análisis de varianza (ANOVA), con el propósito de determinar las diferencias significativas en los tratamientos realizados. Para luego determinar diferencias estadísticas entre tratamientos mediante la prueba de Duncan con 5 % de nivel de confianza mediante un software libre de Statgraphics Centurion XV.

Resultados

Efecto promotor de bacterias diazotróficas en la longitud del tallo, en plántulas de paprika

Tabla 1

Prueba de Duncan para la longitud del tallo obtenido por las plantas de paprika a los 60 días de cultivo bajo condiciones de invernadero

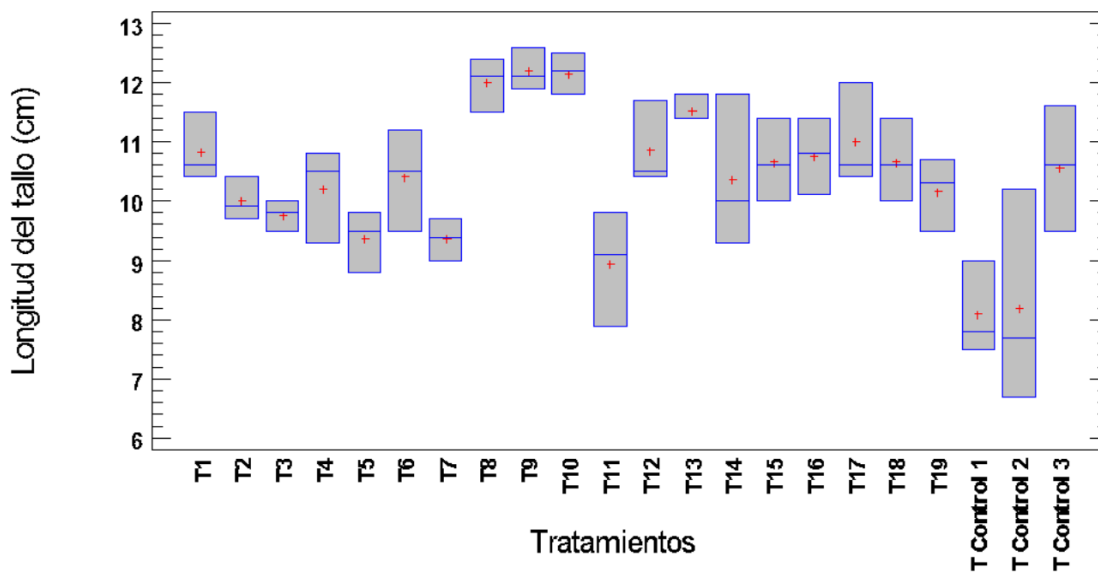
| | Tratamientos | | Media (cm) | Grupos Homogéneos |
|------------------------|--------------------------------------|-----|------------|-------------------|
| T ₉ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 3A | 12,20 | a |
| T ₁₀ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 3B | 12,17 | a |
| T ₈ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 14B | 12,00 | a b |
| T ₁₃ | <i>Azotobacter vinelandii</i> | 30D | 11,53 | a – c |
| T ₁₇ | <i>Erwinia</i> sp. | 14A | 11,00 | a – d |
| T ₁₂ | <i>Azotobacter vinelandii</i> | 13C | 10,87 | a – e |
| T ₁ | <i>Sphingobium yanoikuyae</i> | 11A | 10,83 | a – e |
| T ₁₆ | <i>Bacillus niabensis</i> | 17C | 10,77 | a – e |
| T ₁₈ | <i>Klebsiella oxitoca</i> | 18A | 10,67 | b – e |
| T ₁₅ | <i>Agrobacterium tumefaciens</i> | 7A | 10,67 | b – e |
| T _{Control 3} | Control ₃ Azotolam | | 10,57 | b – e |
| T ₆ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 9F | 10,40 | c – f |
| T ₁₄ | <i>Burkholderia</i> sp. | 7B | 10,37 | c – f |
| T ₄ | <i>Novosphingobium resinovororum</i> | 16B | 10,20 | c – f |
| T ₁₉ | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 5A | 10,17 | c – f |
| T ₂ | <i>Sphingobium yanoikuyae</i> | 9K | 10,00 | c – f |
| T ₃ | <i>Sphingobium yanoikuyae</i> | 26B | 9,77 | d – f |
| T ₇ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 11I | 9,37 | e – g |
| T ₅ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 12G | 9,37 | e – g |
| T ₁₁ | <i>Azotobacter vinelandii</i> | 11D | 8,93 | f g |
| T _{Control 2} | Micorriza (<i>Glomus</i> sp.) | | 8,20 | g |
| T _{Control 1} | Sin inóculo | | 8,10 | g |

Nota. Resultados obtenidos mediante análisis estadístico.

En la Tabla 1 se señalan los resultados de la Prueba de Comparaciones Múltiples de Duncan, realizada a los promedios de la longitud del tallo, esta variable se encuentra en un rango de 8,1 a 12,2 cm. Dicha tabla muestra los promedios de las tres repeticiones por cada tratamiento y los grupos homogéneos los cuales se encuentran en un número de 6 grupos, representados por una letra diferente.

Figura 1

Efecto de los tratamientos sobre la longitud del tallo obtenido por las plantas de páprika a los 60 días de cultivo bajo condiciones de invernadero



Nota. Figura obtenida en el análisis estadístico

En la Figura 1, se observa que el T_{Control 1} (sin inóculo) y el T_{Control 2} (*Glomus* sp.) son los tratamientos que presentaron la media más baja en la longitud del tallo, también no presentaron diferencias significativas entre sí ni tampoco presentaron diferencias significativas entre los tratamientos: T₇ (*Novosphingobium* sp. 11 I), T₅ (*Novosphingobium* sp. 12 G) y T₁₁ (*Azotobacter vinelandii* 11 D); por lo tanto, estos tratamientos no incrementaron significativamente la longitud del tallo con respecto al T_{Control 1} sin inóculo.

El T₉ (*Novosphingobium* sp. 3A) y el T₁₀ (*Novosphingobium* sp. 3B) obtuvieron los mayores promedios en la longitud del tallo en 12,2 y 12,17 cm, respectivamente. Estos dos tratamientos no tuvieron diferencias significativas con los tratamientos: T₈ (*Novosphingobium* sp. 14B), T₁₃ (*Azotobacter vinelandii* 30D), T₁₇ (*Erwinia* sp. 14A), T₁₂ (*Azotobacter vinelandii* 13C), T₁ (*Sphingobium yanoikuyae* 11A) y T₁₆ (*Bacillus niabensis* 17C). Todos estos tratamientos incrementaron significativamente la longitud del tallo con respecto al T_{Control 1} sin inóculo. Al igual también los tratamientos: T₁₈, T₁₅, T_{Control 3}, T₆, T₁₄, T₄, T₁₉, T₂ y T₃; incrementaron significativamente la longitud del tallo con respecto al T_{Control 1} sin inóculo.

Efecto promotor de bacterias diazotróficas en la biomasa radicular en plántulas de páprika

Tabla 2

Prueba de Duncan para la biomasa radicular seca obtenida por las plantas de páprika a los 60 días de cultivo bajo condiciones de invernadero

| Tratamientos | | Media (mg) | Grupos Homogéneos | |
|-----------------|------------------------------------|------------|-------------------|---|
| T ₁₂ | <i>Azotobacter vinelandii</i> | 13C | 134,7 | a |
| T ₁₀ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 3B | 134,4 | a |
| T ₈ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 14B | 134,3 | a |
| T ₄ | <i>Novosphingobium resinovorum</i> | 16B | 132,0 | a |
| T ₁₈ | <i>Klebsiella oxitoca</i> | 18A | 131,1 | a |

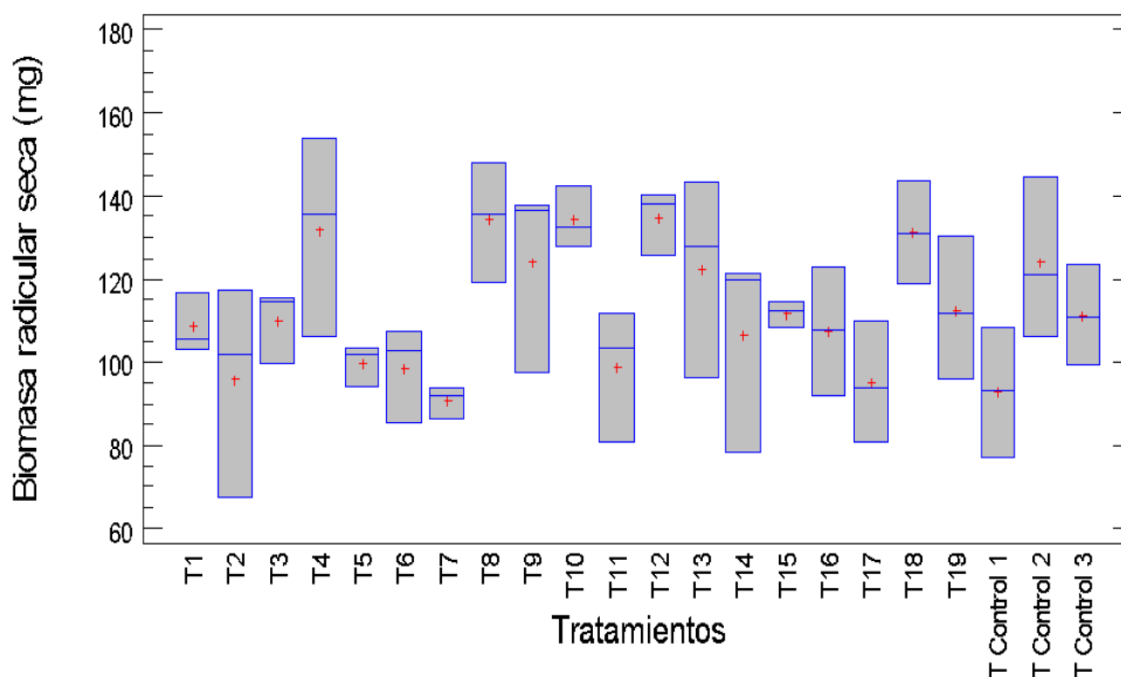
| | | | | |
|------------------------|----------------------------------|-----|-------|-------|
| T ₉ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 3A | 123,9 | a b |
| T _{Control 2} | Micorriza (<i>Glomus</i> sp.) | | 123,9 | a b |
| T ₁₃ | <i>Azotobacter vinelandii</i> | 30D | 122,4 | a b |
| T ₁₉ | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 5A | 112,6 | a - c |
| T ₁₅ | <i>Agrobacterium tumefaciens</i> | 7A | 111,8 | a - c |
| T _{Control 3} | Control3 Azotolam | | 111,2 | a - c |
| T ₃ | <i>Sphingobium yanoikuyae</i> | 26B | 110,0 | a - c |
| T ₁ | <i>Sphingobium yanoikuyae</i> | 11A | 108,7 | a - c |
| T ₁₆ | <i>Bacillus niabensis</i> | 17C | 107,4 | a - c |
| T ₁₄ | <i>Burkholderia</i> sp. | 7B | 106,5 | a - c |
| T ₅ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 12G | 99,9 | b c |
| T ₁₁ | <i>Azotobacter vinelandii</i> | 11D | 98,7 | b c |
| T ₆ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 9F | 98,6 | b c |
| T ₂ | <i>Sphingobium yanoikuyae</i> | 9K | 95,6 | b c |
| T ₁₇ | <i>Erwinia</i> sp. | 14A | 94,8 | b c |
| T _{Control 1} | Sin inóculo | | 92,8 | b c |
| T ₇ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 11I | 90,7 | c |

Nota. Resultados obtenidos mediante análisis estadístico.

En la Tabla 2, se señalan los resultados de la Prueba de Comparaciones Múltiples de Duncan realizada a las medias de la biomasa radicular seca. Dicha tabla muestra los promedios de las tres repeticiones por cada tratamiento, los cuales se encuentran en un rango de 90,7 mg a 134,7 mg y los grupos homogéneos los cuales se encuentran en un número de 3 grupos, representados por una letra diferente.

Figura 2

Efecto de los tratamientos sobre la biomasa radicular seca obtenida por las plantas de paprika a los 60 días de cultivo bajo condiciones de invernadero



En la Figura 2, se observa que el tratamiento T₇ (*Novosphingobium* sp. 11I) presenta la menor media de biomasa radicular seca con 90,7 mg. Este tratamiento junto a los tratamientos T₁₉, T₁₅, T₃, T₁, T₂, T₆, T₅, T₁₆, T₁₄, T₁₇, T₁₁, T₉, T_{Control 2}, T₁₃ y T_{Control 3} no presentan diferencias significativas con respecto al T_{Control 1} sin inóculo, por lo tanto, no incrementan la biomasa radicular seca.

Los tratamientos T₁₂ (*Azotobacter vinelandii* 13 C), T₁₀ (*Novosphingobium* sp. 3B), T₈ (*Novosphingobium* sp. 14 B), T₄ (*Novosphingobium resinovorum* 16 B) y T₁₈ (*Klebsiella oxitoca* 18 A); incrementaron significativamente la biomasa radicular con respecto al T_{Control 1} sin inóculo.

Efecto promotor de bacterias diazotróficas en la biomasa aérea en plántulas de páprika

Tabla 3

Prueba de Duncan para la biomasa aérea seca obtenida por las plantas de páprika a los 60 días de cultivo bajo condiciones de invernadero

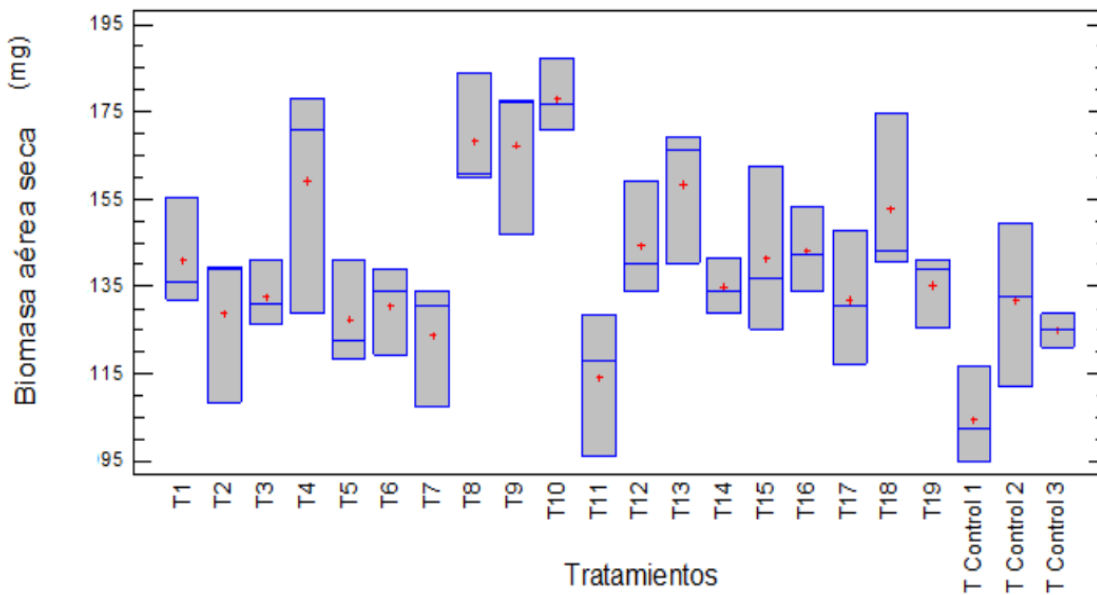
| Tratamientos | | Media (mg) | Grupos Homogneos | |
|------------------------|------------------------------------|------------|-------------------|-------|
| T ₁₀ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 3B | 178,2 | a |
| T ₈ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 14B | 168,1 | a b |
| T ₉ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 3A | 167,3 | a b |
| T ₄ | <i>Novosphingobium resinovorum</i> | 16B | 159,2 | a - c |
| T ₁₃ | <i>Azotobacter vinelandii</i> | 30D | 158,5 | a - d |
| T ₁₈ | <i>Klebsiella oxitoca</i> | 18A | 152,8 | a - e |
| T ₁₂ | <i>Azotobacter vinelandii</i> | 13C | 144,2 | b - f |
| T ₁₆ | <i>Bacillus niabensis</i> | 17C | 143,3 | b - f |
| T ₁₅ | <i>Agrobacterium tumefaciens</i> | 7A | 141,6 | b - g |
| T ₁ | <i>Sphingobium yanoikuyae</i> | 11A | 141,3 | b - g |
| T ₁₉ | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 5A | 135,3 | c - g |
| T ₁₄ | <i>Burkholderia</i> sp. | 7B | 134,8 | c - g |
| T ₃ | <i>Sphingobium yanoikuyae</i> | 26B | 132,9 | c - g |
| T ₁₇ | <i>Erwinia</i> sp. | 14A | 132,0 | c - h |
| T _{Control 2} | Micorriza (<i>Glomus</i> sp.) | | 131,5 | c - h |
| T ₆ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 9F | 130,7 | d - h |
| T ₂ | <i>Sphingobium yanoikuyae</i> | 9K | 128,9 | e - h |
| T ₅ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 11I | 127,4 | e - h |
| T _{Control 3} | Control3 Azotolam | | 125,0 | e - h |
| T ₇ | <i>Novosphingobium</i> sp. | 12G | 124,0 | f - h |
| T ₁₁ | <i>Azotobacter vinelandii</i> | 11D | 114,1 | g h |
| T _{Control 1} | Sin inóculo | | 104,7 | h |

Nota. Resultados obtenidos mediante análisis estadístico.

En el Tabla 3, se señalan los resultados de la Prueba de Comparaciones Múltiples de Duncan realizada a las medias de la biomasa aérea seca. Dicha tabla muestra los promedios de las tres repeticiones por cada tratamiento los cuales se encuentran en un rango de 104,7 mg a 178,2 mg y los grupos homogéneos los cuales se encuentran en un número de 8 grupos, representados por una letra diferente.

Figura 3

Efecto de los tratamientos sobre la biomasa aérea seca obtenida por las plantas de páprika a los 60 días de cultivo bajo condiciones de invernadero



Nota. Figura obtenida en el análisis estadístico.

En la Figura 3, se observa que el tratamiento T_{Control 1} sin inóculo presenta la menor media de biomasa aérea seca con 104,7 mg. Los tratamientos T₁₇, T_{Control 2}, T₂, T₆, T₅, T_{Control 3}, T₁₁ y T₇ no presentan diferencias significativas con respecto al T_{Control 1} sin inóculo. También, se observa que el tratamiento T₁₀ (*Novosphingobium* sp. 3B) es el que presenta la mayor media con 178,2 mg. Este tratamiento no presenta diferencias significativas con los tratamientos T₈ (*Novosphingobium* sp. 14 B), T₄ (*Novosphingobium resinovorum* 16 B), T₉ (*Novosphingobium* sp. 3 A), T₁₃ (*Azotobacter vinelandii* 30D) y T₁₈ (*Klebsiella oxitoca* 18 A). Este tratamiento junto a los tratamientos T₁₂, T₁₆, T₁₅, T₁, T₁₉, T₃ y T₁₄; incrementan significativamente la biomasa aérea seca con respecto al T_{Control 1} sin inóculo.

Discusión

La utilización de la turba como soporte para inoculantes bacterianos es recomendada por su alto contenido en materia orgánica (fuente de carbono) (60-70 %) y por su capacidad de retención de agua (Ferrera, 1993). En otros trabajos no se reportaron diferencias significativas en la variación poblacional de la bacteria *Azotobacter* sp. usando la turba estéril como soporte entre 10, 30, 60 y 90 días después de la inoculación, lo cual nos permite aplicar inóculos bacterianos representantes de la flora diazotrófica (Condori *et al.*, 2004).

En el trabajo realizado por Ji *et al.* (2014) aislaron cepas de bacterias de *Penibacillus*, *Bacillus*, *Klebsiella* y *Microbacterium* con capacidades de mejorar el crecimiento vegetal en plántulas de arroz. Para ello, evaluaron la producción de auxinas, capacidad de solubilizar fosfato, producción de sideróforos y estudiaron la presencia de genes nifH mediante el análisis de secuencias.

En cuanto a la longitud del tallo de páprika en 60 días, los tratamientos T₉ (*Novosphingobium* sp. 3A) y el T₁₀ (*Novosphingobium* sp. 3B) fueron los que obtuvieron los mejores resultados en esta variable evaluada.

Aunque no presentaron la capacidad de producir ácido indol acético (AIA), sin embargo, sí incrementaron significativamente el porcentaje de germinación de semillas de alfalfa. Por tanto, este efecto en la longitud del tallo se debería a la presencia de otras hormonas o a la propia fijación de nitrógeno.

Los tratamientos que produjeron un incremento significativo en las tres variables evaluadas, con respecto al control sin inóculo fueron las siguientes: *Novosphingobium* sp. 3 B, *Novosphingobium* sp. 14 B y *Novosphingobium resinovorum* 16 B. De estas tres, *Novosphingobium* sp. 14 B presenta la capacidad de producir AIA y no incrementó el porcentaje de germinación, por lo que el efecto benéfico está estrechamente asociado a la producción de AIA. También podemos destacar la cepa *Klebsiella oxitoca* 18 A, de igual modo incrementó significativamente el crecimiento vegetal del Páprika en las tres variables evaluadas. Este efecto benéfico por parte de esta bacteria se puede deber tanto por la producción de AIA, asociado a la fijación de nitrógeno, y tal vez a los mismos factores que permitieron un incremento en el porcentaje de germinación de alfalfa.

Este efecto por parte de *Klebsiella oxitoca* también fue visto por Lutfu *et al.* (2010), quienes adicionaron suspensiones de este microorganismo en plantas de trigo permitiendo un aumento en la biomasa aérea seca y el contenido de nitrógeno de la planta. De igual manera, la cepa *Azotobacter vinelandii* 13 C produjo también un efecto benéfico en la planta de páprika incrementando significativamente las tres variables evaluadas. Esta cepa no presentó la capacidad de producir AIA, por lo que la fijación de nitrógeno por parte de esta bacteria fue lo que produjo el crecimiento vegetal. Comparando con los resultados de Reyes *et al.* (2008) evaluó una cepa de *Azotobacter* sp. y las comparó con diferentes cepas bacterianas diazotróficas en el cultivo de pimiento y maíz, obteniendo resultados similares entre todas las bacterias evaluadas.

De acuerdo con la prueba de Duncan, realizada a las tres variables, se observaron que las cepas *Novosphingobium* sp. 11 I, *Novosphingobium* sp. 12 G y *Azotobacter vinelandii* 11 D no produjeron ningún efecto significativo en el crecimiento de páprika en ninguna de las variables evaluadas. Esto puede deberse a que estas bacterias no han podido desarrollarse en la superficie de la raíz de la planta de páprika, evitando que estas cepas promuevan el crecimiento vegetal mediante sus capacidades. En cuanto a *Azotobacter vinelandii* 11 D pudo desarrollarse sobre la superficie radicular, pero su eficiencia en la fijación de nitrógeno fue tan baja que no produjo ningún efecto en el crecimiento vegetal. En el trabajo de Valero (2010), obtienen que la cepa *Azotobacter* sp. incrementó significativamente la biomasa aérea de arroz y la compara con otras cepas diazotróficas, entre ellas *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxitoca*, las cuales tienen efectos similares a los obtenidos por *Azotobacter* sp. Se conoce el importante papel que desempeña el *Azotobacter* en el crecimiento y desarrollo de las plantas, incluso son capaces de incrementar el rendimiento de los cultivos, los valores varían de acuerdo con la bacteria y su afinidad por el cultivo, lo que indica especificidad del microorganismo e incluso de las cepas (Larson y Neal, 1978).

Cabe mencionar el trabajo realizado por Dos Santos *et al.* (2019) lograron aislar cepas de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Nitrospirillum amazonense* y *Paraburkholderia tropica*; las cuales fueron inoculadas individualmente. Observaron aumentos de hasta un 50 % en la masa seca de la raíz después de la inoculación en las plántulas en la fase de germinación.

En cuanto a las bacterias *Erwinia* sp. (14 A), *Klebsiella oxitoca* (18 A) y *Klebsiella pneumoniae* (5 A), pertenecientes a la Familia Enterobacteriaceae, presentan una respiración anaerobia facultativa, lo cual demuestra que la fijación de nitrógeno por parte de estas bacterias se da en condiciones anaerobias. Existen

múltiples trabajos que demuestran el efecto de estas bacterias como promotoras del crecimiento vegetal, como es el caso de *Pantoea agglomerans*, que demostró la fijación de nitrógeno mediante la inoculación en plantas de trigo (Merbach *et al.*, 1998); también el caso de *Enterobacter radicincitans* que corresponde a una PGPR aislada del rizoplaneo de trigo de invierno, capaz de fijar N₂ y producir fitohormonas, tales como auxinas y citoquininas. Esta cepa es capaz de aumentar el desarrollo de las raíces y el rendimiento de diferentes especies vegetales (Kämpfer *et al.*, 2005), entre otros. No obstante, cabe resaltar que para que estas cepas representantes de la familia Enterobacteriaceae puedan ser aplicadas como bioinoculantes es necesario realizar pruebas de patogenicidad, que permitan tener un mejor conocimiento de estas bacterias, y así evitar efectos negativos en la planta.

Glick *et al.* (1999) indican que las bacterias que secretan bajos niveles de AIA (9-10 a 10-12 M) estimularían la elongación de raíces, mientras que bacterias altamente productoras de auxinas promoverían la formación de raíces laterales o el desarrollo de pelos absorbentes. De acuerdo a esta afirmación, dos de las bacterias que incrementaron significativamente la biomasa radicular seca (*Klebsiella oxitoca* 18 A y *Novosphingobium* sp. 14 B) presentan la capacidad de producir AIA, por lo que se justifica el incremento de la biomasa radicular exclusivamente por esta característica debido a que estas dos cepas no incrementaron significativamente el porcentaje de germinación. No obstante, las otras tres bacterias que incrementaron la biomasa radicular (*Azotobacter vinelandii* 13 C, *Novosphingobium* sp. 3 B y *Novosphingobium resinovorum* 16 B) no presentaron la capacidad de producir AIA, pero sí incrementaron el porcentaje de germinación, por lo que el efecto en el incremento de la biomasa radical se debe a otras hormonas o asimilación de productos orgánicos de la fijación de nitrógeno. El incremento de la biomasa aérea seca representa de forma indirecta el efecto de la fijación de nitrógeno. Dentro de las bacterias que permitieron un incremento significativo en esta variable y fueron superiores a la bacteria *Azotobacter vinelandii* 30 D (158,5 mg) se encuentran las bacterias representantes del género *Novosphingobium* como es el caso de las cepas: 3 B (178,2 mg), 14 B (168,1 mg), 3 A (167,3 mg) y 16 B (159,2 mg).

El inoculante comercial Azotolam contiene una cepa de *Azotobacter* sp, humus y Endomicorriza; solo produjo un incremento significativo en la longitud del tallo. El tratamiento inoculado con la Endomicorriza *Glomus* sp. no produjo ningún efecto en las tres variables evaluadas en la planta de páprika, esto se debería a la cantidad de PIM inoculados, ya que en el trabajo presentado por Vilca (2008), se determinó una dosis óptima para plantas de páprika inoculadas con la Endomicorriza *Glomus* sp. la cual se encuentra en un rango de 800 a 1000 PIM, a diferencia de los 400 PIM inoculados.

Todas las cepas bacterianas evaluadas a nivel de invernadero son consideradas autóctonas o nativas, lo que les confiere una característica fundamental en comparación con cepas comerciales que no están adaptadas a las condiciones de clima y suelo de los cultivos agrícolas de Tacna.

En el trabajo de Lozada y Rivas (2010) se observa que al aplicar *Azotobacter* sp. con un 50 % de fertilizante químico, permite un incremento en el crecimiento de páprika a comparación con el tratamiento netamente químico, lo que demuestra que los cultivos bacterianos requieren de cierta cantidad de nutrientes a nivel de campo para que se puedan desarrollar. Estas cepas bacterianas deben ser inoculadas con algún tipo de elemento nutritivo, como el compost para garantizar la sobrevivencia de la bacteria producida como bioinoculante y permitir la fijación de nitrógeno. Este bioinoculante deberá ser comparable a la fertilización química o inclusive superar su efecto para abaratar costos e implementar una agricultura limpia y ecológica en Tacna.

Conclusiones

Las bacterias diazotróficas nativas evaluadas generan un incremento en el crecimiento y desarrollo de plántulas de páprika (*Capsicum annuum*). La cepa de *Azotobacter vinelandii* y *Novosphingobium* sp. fueron las mejores en promover el crecimiento vegetal de las plántulas de páprika. Incrementando en un máximo de 50 % la altura de la planta en comparación con el control sin inóculo. También, incrementó en un 70 % la biomasa aérea seca en comparación con el control.

Referencias

- Condori, D., Gómez, R., & Anco I. (2004). *Comportamiento poblacional de bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN) en dos soportes sólidos orgánicos*. III Congreso Internacional de Biotecnología. Tacna- Perú.
- Dos Santos, S. G., Chaves, V. A., da Silva Ribeiro, F., Alves, G. C., & Reis, V. M. (2019). Rooting and growth of pre-germinated sugarcane seedlings inoculated with diazotrophic bacteria. *Applied Soil Ecology*, 133, 12–23. <https://doi.org/10.1016/J.APSOIL.2018.08.015>
- Ferrera, C. (1993). *Manual de Agromicrobiologa*. Edit. Trillas México D.F.
- Glick, B., Patten, C., Holguin, G., & Penrose, D. (1999). *Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria*. Imperial College press. London.
- Ji, S. H., Gururani, M. A., & Chun, S. C. (2014). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. *Microbiological Research*, 169(1), 83–98. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2013.06.003>
- Kmpfer, P., Ruppel, S., & Reiner, R. (2005). *Enterobacter radicincitans* sp. Nov., a plant growth promoting species of the family Enterobacteriaceae. *Systematic App. Microbiol.* 28, 213-221.
- Larson, R., & Neal, L. (1978). Selective colonization of the rhizosphere of wheat by nitrogen fixing blue-green algae and asymbiotic bacteria. *Ecol. Bull.*, 26, 331-342.
- Lozada, L., & Rivas, C. (2010). *Evaluación del efecto de la inoculación con Azotobacter spp. en plantas de aj dulce (Capsicum frutescens)*. Universidad de los Andes. Departamento de Ciencias Agrarias. Trujillo.
- Lutfu, M.; H. Evans y R. Seidler. (2010). Characteristics of nitrogen-fixing *Klebsiella oxytoca* isolated from wheat roots. *Plant and Soil*, 61(1-2), 53-63.
- Merbach, W., Ruppel, S., & Schulze, J. (1998). Dinitrogen Fixation of Microbe-Plant Associations as Affected by Nitrate and Ammonium Supply. *Environ and Health St.* 34, 67-73.
- Ogata, K., Arellano, C. y Zúniga, D. (2008). Efecto de diferentes bacterias aisladas de rizósfera de *Caesalpinia spinosa* en la germinación de algunas especies vegetales. *Zonas ridas*, 72(1), 137-153.
- Olalde, P. y L. Aguilera. (1998). Microorganismos y Biodiversidad. *Terra* 16 (3): 289 –292.

Reyes, I., Alvarez, L., El-Ayoubi, H., & Valery, A. (2008). Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. *Bioagro*, 20(1), 37-48.

Stewart, W. (1991). The important to sustainable agriculture of biodiversity among invertebrates and microorganisms. In: D. L. Hawksworth (ed). *The biodiversity of microorganisms and invertebrates: Its role in sustainable agriculture*. Redwood Press. 3 – 5. Melksham - UK.

Valero, N. (2010). Screening y evaluación de bacterias con potencial biofertilizante asociadas a cultivos de arroz. *Revista Colombiana de Microbiología Tropical*. RCMT 0(1).

Vilca, L. (2008). Efecto biofertilizante de la endomicorriza *Glomus* spp en plantas de ají páprika *Capsicum annum* L. bajo condiciones de invernadero [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú.