



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

BIOQUÍMICO Y FARMACÉUTICO

TRABAJO DE TITULACIÓN

Evaluación del desarrollo fisiológico de esquejes de
Duranta sp. inoculados con bacterias PGPR encapsuladas.

Autora: Pineda Sánchez, Diana Cecibel

Director: Capa Mora, Edwin Daniel

LOJA - ECUADOR

2021



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NC-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2021

Aprobación del director del Trabajo de Titulación

Loja, 05 de enero del 2021

Claudia Teresa Cruz Erazo

Coordinadora de la titulación de Bioquímico y Farmacéutico

Ciudad. -

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado: Evaluación del desarrollo fisiológico de esquejes de *Duranta* sp. inoculados con bacterias PGPR encapsuladas, realizado por Diana Cecibel Pineda Sánchez, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo. Así mismo, doy fe que dicho trabajo de Titulación ha sido revisado por la herramienta antiplagio institucional.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Firma del director del Trabajo de Titulación

Edwin Daniel Capa Mora

C.I: 1103819486

Declaración de autoría y cesión de derechos

“Yo, Diana Cecibel Pineda Sánchez, declaro y acepto en forma expresa lo siguiente:

- Ser autora del Trabajo de Titulación denominado: Evaluación del desarrollo fisiológico de esquejes de *Duranta* sp. inoculados con bacterias PGPR encapsuladas, de la Titulación de Bioquímica y Farmacia, específicamente de los contenidos comprendidos en: Introducción, Capítulo 1. Marco teórico de la especie *Duranta* sp., y de las bacterias PGPR, Capítulo 2. Objetivos para evaluar el desarrollo fisiológico de las plántulas, Capítulo 3. Materiales y métodos de la reactivación y encapsulamiento de las bacterias, Capítulo 4. Resultados y discusión de las variables evaluadas, Conclusiones y Recomendaciones, siendo Edwin Daniel Capa Mora, director del presente trabajo; y, en tal virtud, eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones judiciales o administrativas, en relación a la propiedad intelectual. Además, ratifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo son de mi exclusiva responsabilidad.
- Que mi obra, producto de mis actividades académicas y de investigación, forma parte del patrimonio de la Universidad Técnica Particular de Loja, de conformidad con el artículo 20, literal j), de la Ley Orgánica de Educación Superior; y, artículo 91 del Estatuto Orgánico de la UTPL, que establece: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.
- Autorizo a la Universidad Técnica Particular de Loja para que pueda hacer uso de mi obra con fines netamente académicos, ya sea de forma impresa, digital y/o electrónica o por cualquier medio conocido o por conocerse, sirviendo el presente instrumento como la fe de mi completo consentimiento; y, para que sea ingresada al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, en cumplimiento del artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma :

Autor : Diana Cecibel Pineda Sánchez

C.I. : 1104747082

Dedicatoria

El presente estudio va dedicado a Dios e inspirado en mis padres por su apoyo y dedicación para continuar con mis estudios, al ser un ejemplo de persona fuerte y luchadora contra cualquier adversidad que se presente, a mis hermanos y Jonathan por motivarme a seguir adelante bajo diferentes circunstancias, siempre con fé y esperanza de la voluntad de nuestro Dios y señor.

Agradecimientos

A Dios, por su bondad en concedernos la vida y la oportunidad de ayudar al prójimo con nuestros conocimientos, el cual gracias a su voluntad ha querido que se realizara este trabajo.

Quiero agradecer de manera especial a la Universidad Técnica Particular de Loja por cultivar y sembrar conocimientos, ser emprendedora de nuevos caminos, a mi tutor Daniel Capa Mora, y al MCS. Oscar Vivanco, que me ayudaron de guía para poder realizar de la manera más eficientemente posible, y por dedicarme su valioso tiempo y sus conocimientos para la creación de esta tesis.

De la misma forma, al Ing. Marco Ayala por el apoyo brindado al compartirnos un espacio en el Vivero Municipal de Loja, para poder realizar el estudio de las plántulas, y así mismo a mi compañera Yadira Cuenca que fue gentilmente quien me colaboró para el cuidado y riego de las mismas y así poder culminar el presente estudio que sin duda alguna dio mucha importancia.

Y a toda mi familia que con su tiempo y sustento incondicional supieron apoyarme para poder emprender este camino y llegar al feliz término, especialmente a mis padres que han sido el motor de mi vida y mi mayor ejemplo.

Infinitamente muchas gracias.

Índice de contenidos

Carátula	I
Aprobación del director del trabajo de titulación	II
Declaración de autoría y cesión de derechos.....	III
Dedicatoria	V
Agradecimientos.....	VI
Índice de contenidos	VII
Resumen	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Capítulo 1 (Marco teórico).....	5
1.1. Especie <i>Duranta</i> sp.	5
1.1.1. Distribución y ecología.....	5
1.1.2. Usos	5
1.1.3. Cultivo	6
1.1.4. Propagación	6
1.2. Bacterias PGPR (Bacterias promotoras de crecimiento vegetal)	7
1.2.1. <i>Bacillus</i> sp.	8
1.2.2. <i>Streptomyces</i> sp.....	10
1.3. Efectos entre el uso de fertilizantes y microorganismos.....	11
1.3.1. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal	12
1.3.2. Microencapsulación: Inoculante de alginato	13

Capítulo 2 (Objetivos)	15
2.1. Objetivo general del proyecto	15
2.2. Objetivos específicos del proyecto.....	15
Capítulo 3. (Materiales y métodos)	16
3.1. Fase experimental: Laboratorio	16
3.1.1. Obtención y reactivación de bacterias PGPR	16
3.1.2. Incremento de la biomasa bacteriana	16
3.1.3. Microencapsulación	16
3.1.4. Evaluación de unidades formadoras de colonias (UFC) después de encapsulación.....	17
3.1.5. Confirmación de viabilidad de bacterias PGPR en cápsulas deshidratadas....	17
3.2. Fase experimental: Vivero	18
3.2.1. Obtención y enraizamiento de los esquejes de <i>Duranta</i> sp.....	18
3.2.2. Inoculación de bacterias PGPR	18
3.2.3. Verificación del microbiota inoculada.....	19
□ Variables evaluadas	19
3.2.4. Análisis estadístico	19
Capítulo IV (Resultados y discusión)	20
4.1. Fase Laboratorio	20
4.1.1. Reactivación y crecimiento bacteriano en medios TSA y TSB	20
4.1.2. Eficiencia del encapsulado de <i>Bacillus</i> sp. y <i>Streptomyces</i> sp.....	23
4.2. Fase de campo (vivero)	27

4.2.1. Efecto de los microencapsulados de <i>Bacillus</i> sp. y <i>Streptomyces</i> sp. en el desarrollo fenológico de <i>Duranta</i> sp.....	30
Conclusiones	34
Recomendaciones	35
Referencias	36
Apéndices.....	41

Índice de figuras.

Figura 1. Interacción benéfica planta-bacteria en la rizósfera	8
Figura 2. Mecanismos de control biológico de <i>Bacillus</i> sp.....	9
Figura 3. Inoculación de rizobacterias por medio de microcápsulas.....	13
Figura 4. Mecanismos de gelificación iónica externa e interna.....	14
Figura 5. Observación macroscópica del crecimiento de las cepas.....	20
Figura 6. Concentración de la biomasa bacteriana	22
Figura 7. Microcápsulas de alginato + bacterias PGPR	25
Figura 8. Plántulas de <i>Duranta</i> sp. en sus 3 tratamientos	27
Figura 9. Altura ganada en las estacas de la especie <i>Duranta</i> sp. entre el inicio y final del experimento (60 días)	28
Figura 10. Diámetro ganado en las estacas de la especie <i>Duranta</i> sp. entre el inicio y final del experimento (60 días)	29
Figura 11. Los brotes ganados en las estacas de la especie <i>Duranta</i> sp. entre el inicio y final del experimento (60 días)	30
Figura 12. Longitud de la raíz ganados en las estacas de la especie <i>Duranta</i> sp. entre el inicio y final del experimento (60 días)	31

Índice de tablas

Tabla 1. Descripción de los tratamientos de bacterias PGPR.....	18
Tabla 2. Unidades formadoras de colonias (UFC) por mL de microcápsulas.....	24

Resumen

El efecto con la inoculación de microorganismos benéficos ha sido de gran interés, debido a que estimulan el crecimiento y desarrollo fisiológico en las plantas, por ello, en el presente proyecto, se sometió las bacterias *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp. a su reactivación en medios de cultivo Agar TSA y Caldo TSB, a las cuales se las microencapsuló para posterior aplicarlas a la especie *Duranta* sp. y comprobar si su aplicación en cápsulas ayuda a mejorar el prendimiento de *Duranta* sp. Las variables evaluadas de la especie vegetal fueron: altura, diámetro de tallo, brotes y longitud de la raíz, esta evaluación se realizó por un lapso de 60 días. Obteniendo como resultado que no se aprecia diferencias significativas estadísticas entre tratamientos, sin embargo, en la inoculación del tratamiento con la bacteria *Bacillus* sp. presentó de manera observacional una mayor altura con 0,07 cm y enraizamiento con 0,32 cm superior a los tratamientos con *Streptomyces* sp. y el Control, por lo cual, se destaca que la bacteria *Bacillus* sp. podría ser considerada como benéfica para el desarrollo del cultivo en estudio.

Palabras claves: Bacterias PGPR, microencapsulación, *Duranta* sp.

Abstract

The effect with the inoculation of beneficial microorganisms has been of great interest, because they stimulate the growth and physiological development in plants, therefore, in the present project, the bacteria *Bacillus* sp. and *Streptomyces* sp. were subjected to their reactivation in culture media Agar TSA and Broth TSB, to which they were microencapsulated for later application to the *Duranta* sp. and check if its application in capsules helps to improve the attachment of *Duranta* sp. The variables evaluated of the plant species were: height, stem diameter, shoots and root length, this evaluation was carried out for a period of 60 days. Obtaining as a result that no statistically significant differences are appreciated between treatments, however, in the inoculation of the treatment with the bacterium *Bacillus* sp. it presented observationally greater height with 0.07 cm, and rooting with 0.32 cm, higher to the treatments with *Streptomyces* sp. and the Control, for which, it stands out that the bacterium *Bacillus* sp. it could be considered beneficial for the development of the crop under study.

Keywords: PGPR bacteria, microencapsulation, *Duranta* sp.

Introducción

Duranta es una especie de arbusto, ampliamente cultivada como planta ornamental en jardines de todo el mundo. Sin duda, cumplen un papel muy significativo en la agricultura, porque se adaptan a las condiciones climáticas que prevalece el vivero, además esta especie requiere suelo fértil y suelto, no es propensa a que sus raíces se pudran, su crecimiento puede interrumpirse si el suelo se anega. Sus riegos deben ser moderados, se adapta al sol y semisombra, se reproduce por semillas en primavera o esquejes en verano (Minga & Verdugo, 2015).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal son de vida libre y benéficas para el suelo, cumplen un papel importante para el desarrollo de las especies vegetales, de manera que, al asociarse son capaces de aumentar el crecimiento de las plantas mediante fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos, minerales y otros nutrientes; además, incrementa defensas contra el ataque de otros microorganismos encontrados en la rizósfera (Sotelo, Jimenez, Tarcisio & Cueto, 2012).

El crecimiento de las plantas inoculadas con rizobacterias ocurre por la acción de sustancias reguladoras tales como las giberelinas, citocinas y auxinas, las que ayudan al aumento del enraizamiento, a su vez incrementan la capacidad de absorción de agua y nutrientes para que las plantas se vuelvan productivas, vigorosas y tolerantes a las condiciones climáticas. Dentro de estos organismos, las bacterias *Streptomyces* sp. y *Bacillus* sp. se destacan por su amplia distribución en la naturaleza, ya que tienen gran potencial como agentes de control de patógenos y como promotores del crecimiento vegetal (López, 2013).

Los inoculantes microbianos son componentes vitales, y tienen la finalidad de reducir la contaminación ambiental derivada del uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados (Mantilla, Alvarez & Zumanqué, 2013). Por tal motivo, el uso de microorganismos como inoculantes mejoran la productividad de los cultivos y a su vez, la encapsulación les beneficia

ya que podrían ser más efectivas en el desarrollo de las plantas, ya que estos organismos estarían protegidos contra factores externos como el estrés ambiental, con lo cual lograrían mayor sobrevivencia en la rizosfera. Por ello, la aplicación de las rizobacterias ha dado un buen resultado para el crecimiento de las mismas, observando un aumento eficaz del desarrollo de los sistemas radicales (Parra, 2011).

Con base a los antecedentes anteriores, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el desarrollo fisiológico de esquejes de *Duranta* sp. una especie que presenta problemas en cuanto a su prendimiento y desarrollo. Estacas de esta especie fueron inoculadas con cepas bacterianas encapsuladas de *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp. bajo las condiciones de vivero (Instalaciones del Vivero Municipio de Loja), con el fin de evaluar su efecto sobre el desarrollo fenológico de *Duranta* sp.

Capítulo 1 (Marco teórico)

1.1. Especie *Duranta* sp.

El género *Duranta* pertenece a la familia Verbenaceae, de 30 especies de árboles y arbustos de hoja perenne, oriunda de las regiones tropicales y subtropicales del continente americano. Se la conoce vulgarmente como Flor celeste o *Duranta* y científicamente como *Duranta erecta*, o *Duranta repens* (Avilés, Pupo, Viera, Rosabal, Guardia, Sangoquiza, & Naranjo, 2018), entre otros.

“Son arbustos o árboles pequeños, de 2 a 6 m de alto, con flores de alrededor de 1 cm de ancho entre azules y lilas. Tallo: frecuentemente armados con espinas gruesas de 0.5 a 2 cm de largo, ramas con pelos blancos o sin ellos. Hojas: opuestas simples con lámina elíptica. Flores: Inflorescencia terminal y axilar, en pedicelos de 2 a 5 mm de largo, cada una sostenida por una bráctea” (Avena et al., 2018).

1.1.1. Distribución y ecología

Según Minga & Verdugo (2015), los arbustos de *Duranta* “Se distribuyen en bosques caducifolios, montanos y áreas disturbadas de Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú entre 1500 y 3000 m de altitud. En nuestro país ha sido registrada en las provincias de Azuay, Bolívar, Cañar, Cotopaxi, Galápagos, Loja y Los Ríos”. En la región sur del Ecuador y específicamente en la provincia de Loja, cuenta con una gran variedad de especies vegetales, entre ellas el género *Duranta*, varias se encuentran en el Vivero Municipal de Loja, cuyo propósito es la ornamentación y reforestación de parques, jardines, riberas de ríos de la ciudad.

1.1.2. Usos

Debido a sus diferentes floraciones y frutos, existen algunos usos medicinales, como usos tradicionales, con sus tallos se elaboran husos y guangos para hilar; con sus frutos se emplean para lavar la cabeza, además también se utiliza como leña (madera) (Avena et al.,

2018); con sus hojas se obtienen extractos para actividad antifúngica. La especie posee actividades citotóxicas y antibacterianas, con efectos antioxidantes. Además, Avilés et al. (2018), menciona que "los extractos acuosos de *D. repens* ayudan a mejorar la contractilidad uterina en las mujeres para facilitar el parto, asimismo se han realizado algunos informes sobre sus usos en la mitigación de la contaminación del aire".

1.1.3. Cultivo

Las plantas *Duranta* se cultivan al aire libre en viveros, como plantas ornamentales a temperaturas cálidas, en preferencia en lugares directos de sol para mayor sobrevivencia, no soportan las heladas por debajo de los 5 °C, se adapta a suelos ligeros y fértiles. Soporta bien la sequía, pero es conveniente un riego moderado para que el sustrato se mantenga húmedo, al mismo tiempo hay que darle una poda, para que ayude a fortalecer la planta y darle forma (Ribera, 2016).

1.1.4. Propagación

El proceso de propagación o multiplicación de esta planta suele ser de dos formas, por semillas y por esquejes. Mediante semillas, los frutos deben ser recolectados maduros (color amarillo), luego se deben extraer las semillas y secarlas al sol. Antes de sembrarlas se recomienda ponerlas en remojo durante 24 horas, con este tratamiento alcanza porcentajes de germinación entre 10 y 20 % (Minga & Verdugo, 2015) los cuales son considerados muy bajos.

La multiplicación por esquejes, es el método, y es el más recomendable para su propagación, ya que resulta de gran utilidad si lo que se quiere es obtener varias plantas para formar un cerco o seto, durante el proceso se puede utilizar hormonas para enraizar y, es importante que durante las primeras etapas de propagación se realice bajo sombra, preferiblemente ventilado y con buena luz (Paredes, 2010).

1.2. Bacterias PGPR (Bacterias promotoras de crecimiento vegetal)

Paredes (2014), menciona a Kloepper & Schroth (1978), que ellos "designaron a las rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) en 1982, y a su vez propusieron que las bacterias colonizaban las raíces, estimulaban el crecimiento de las plantas y reducían la incidencia de las enfermedades ". Dentro de las PGPR más referenciadas son *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., *Rhizobium* sp., *Burkholderia* sp., *Enterobacter* sp., *Streptomyces* sp., *Azetobacter* sp., *Erwinia* sp., *Herbaspirillum* sp., *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp., y *Xanthomonas* sp. (Criollo et al., 2013).

Cabe mencionar que algunos géneros de bacterias causan enfermedades en plantas, mientras que otras son beneficiarias por ellas, debido a que ayudan a defenderse de microorganismos dañinos; estas bacterias son capaces de actuar contra insectos, hongos y nematodos. Algunos géneros de bacterias que pertenecen a este grupo son: *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Streptomyces* (Carreras, 2011). Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal benefician a los cultivos agrícolas a través de mecanismos directos e indirectos; los directos se evidencian en ausencia de otros microorganismos, mientras que los mecanismos indirectos se pueden observar en la interacción del microorganismo de interés con un fitopatógeno, como *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Streptomyces* (Paredes, 2014).

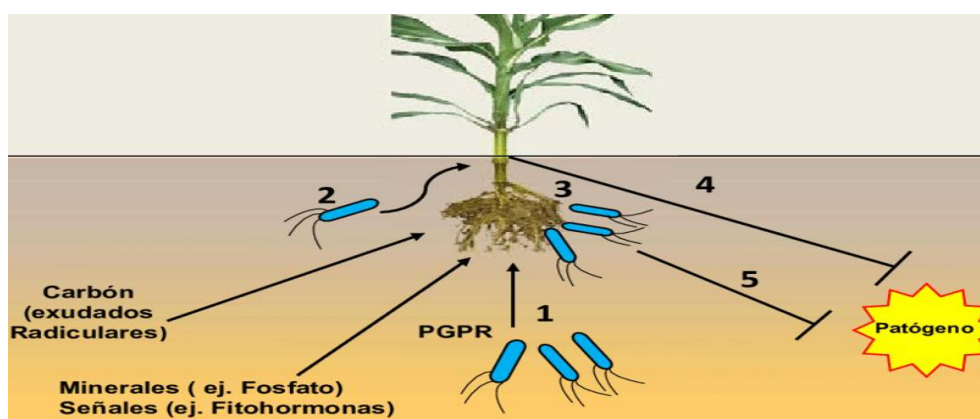
Los géneros de bacterias *Streptomyces* sp. y *Bacillus* sp. se destacan por su amplia distribución en la naturaleza, tienen gran potencial como agentes de control de patógenos y como promotores del crecimiento vegetal (López, 2013).

"Las PGPR favorecen el crecimiento de las plantas a través de funciones claves para la planta tales como: (i) control biológico de los patógenos mediante efectos antagonista o de inducción de resistencia sistémica, (ii) incremento de la biodisponibilidad de elementos minerales como por ejemplo la solubilización de fosfatos, fijación de nitrógeno, síntesis de

fitohormonas, o (iii) la fitoestimulación al propiciar la emergencia o el enraizamiento, para un mayor desarrollo de la planta” (Figura 1) (Echeverría, 2011). “Las PGPR deben cumplir tres características intrínsecas: (i) ser capaces de colonizar la raíz y su zona de influencia; (ii) sobrevivir y multiplicarse en los microhábitat asociados a la superficie de la raíz donde compiten con la microbiota natural y (iii) estimular el crecimiento vegetal” (Correa, 2008).

Figura 1.

Interacción benéfica planta-bacteria en la rizósfera.



Nota: Adaptado de Echeverría (2011). “Funciones: Movilidad (1), Adherencia (2) crecimiento (3). Las PGPR pueden mejorar el crecimiento de la planta por la liberación de nutrientes y fitohormonas y / o inhibir enfermedades en las raíces causadas por fitopatógenos. La inhibición de los fitopatógenos puede resultar de manera indirecta a través del ISR (sistema inmune sistémico) (4) o de manera directa, debido a la producción de metabolitos secundarios (5) ”.

1.2.1. *Bacillus* sp.

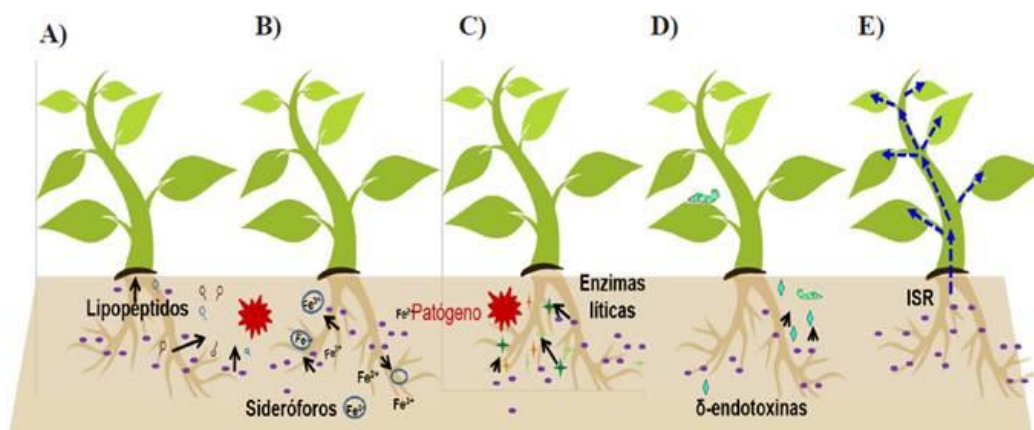
Tejera, Heydrich & Rojas (2011), indican que “por primera vez Cohn, descubrió el género *Bacillus* y diversas especies filogenéticas y fenotípicamente heterogéneas. Además, el género *Bacillus* es conocido porque se distribuye en diferentes ambientes como agua, suelo y agro-sistemas, así mismo, ha sido ampliamente estudiado debido a su alta abundancia”. Por otra parte, este género muestra potencialidad en el crecimiento, lo que le facilita la

colonización de las plantas y la producción de fitohormonas, debido a su motilidad, así como también el control biológico de patógenos (López, 2013).

El género *Bacillus* sp. incluye especies responsables del control biológico de enfermedades y plagas que atacan a los cultivos. Actualmente estudios que se llevan a cabo con estas bacterias se han enfocado principalmente en la capacidad de actuar como bacterias bioprotectoras y promotoras del crecimiento vegetal (Figura 2). *Bacillus* es uno de los géneros más comunes de bacterias de vida libre presentes en el suelo. En este hábitat, se ubica desde las capas más superficiales hasta las más profundas y, se encuentra colonizando la rizosfera de las plantas (López, 2013).

Figura 2.

Mecanismos de control biológico de *Bacillus* sp.



Nota: adaptado de Villarreal et al. (2018). Las principales vías por las cuales estas cepas evitan el establecimiento y desarrollo de organismos fitopatógenos, es a través de diferentes mecanismos, que incluyen A) la excreción de antibióticos, B) sideróforos, C) enzimas líticas, D) toxinas y E) induciendo la resistencia sistémica de la planta (ISR).

Su ciclo de vida se divide en dos fases: crecimiento vegetativo y esporulación. Durante el primer estado, la bacteria crece de forma exponencial cuando se encuentra en un medio donde las condiciones son favorables. En la esporulación se ha visto que existe una gran

distribución de estas endosporas, estructura que les permite sobrevivir en condiciones extremas de temperatura desecación, pH, entre otros (Tejera et al., 2011).

❖ **Principales características.**

Este género comprende una diversidad de características fisiológicas, como microbiológicas, entre las características se destaca su crecimiento aerobio o en ocasiones anaerobios facultativos, Gram positivas, morfología bacilar, catalasa positiva, movilidad flagelar y tamaño variable (0.5 a 10 μm), su crecimiento óptimo ocurre a pH neutro, además destaca su capacidad de producir endosporas (ovales o cilíndricas) (Villarreal, Villa, Cira & Estrada, 2018).

1.2.2. *Streptomyces sp.*

Lapaz (2011), hace conocer que, "el género *Streptomyces* pertenece a la familia Streptomycetaceae y orden Actinomycetales". Los microorganismos del género *Streptomyces sp.* habitan en aire, estiércol, agua marina, agua dulce, fango de los ríos y fondo de los lagos, los mismos que disminuyen mínimamente la población por sus bajas condiciones (Ampuero, 2016). Además, tienen la capacidad de producir un gran número de compuestos químicos de viable utilidad para el hombre, los cuales se manipulan en la industria farmacéutica. Diversos grupos de estos microorganismos son capaces de actuar como PGPR y por lo tanto, sirven de utilización en la agricultura (López, 2013).

Tienen gran importancia en los ecosistemas naturales por su participación en la degradación de la materia orgánica y actividad biológica como agentes antagónicos, farmacológicos, agrobiológicos incluyendo insecticidas, fungicidas, herbicidas y compuestos de regulación como factores de crecimiento (López, 2013). Además, pueden sobrevivir como esporas en condiciones desfavorables, pero son necesarios en el uso de la agricultura para la formulación de productos comerciales, viables y estables (Paredes, 2014).

Los miembros de este género son conocidos por la producción de metabolitos secundarios biológicamente activos, con la finalidad de mejorar la capacidad de sobrevivencia en el suelo, a través de una serie de antiinflamatorios, inmunosupresores y en particular antibióticos incluyendo a la estreptomicina (Lapaz, 2011).

El ciclo de vida de *Streptomyces* sp. implica diferentes procesos de diferenciación morfológica y fisiología, son capaces de colonizar sustratos relativamente secos con restos de materia orgánica, dando lugar al micelio por la formación de una red de hifas ramificadas. Estas hifas obtienen nutrientes de la degradación del material orgánico insoluble gracias a numerosas enzimas hidrolíticas (López, 2013).

❖ Principales características.

Este género engloba bacterias filamentosas, micelares, aerobias estrictas, sintetizan la enzima catalasa, son Gram positivas, crecen lentamente, en un período entre 2 a 10 días, capaces de utilizar un gran número de compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía y, con un elevado contenido en guaninas y citocinas en su genoma (Ampuero, 2016).

1.3. Efectos entre el uso de fertilizantes y microorganismos

En la actualidad existen diversos impactos negativos en el ambiente por el uso excesivo de fertilizantes en la agricultura, provocando varios perjuicios como: contaminación de aire, deterioro del suelo y eutrofización de las aguas, causando pérdida en la biodiversidad y daños en la salud del hombre (Cano, 2011). Sotelo et al. (2012), indica que, los microorganismos benéficos (hongos micorrizos arbusculares y rizobacterias), pueden utilizarse como biofertilizantes, ya que ayudan a promover el crecimiento vegetal, gracias a la asociación simbiótica que permiten aprovechar con más eficiencia la humedad del suelo. La aplicación de estos microorganismos benéficos se la puede hacer de manera directa o indirectamente; de manera directa contribuye al crecimiento de las plantas y reducirá la incidencia de enfermedades, lo cual, genera un impacto indirecto benéfico al medio ambiente y a los productores agrícolas. Además, se presume que estos microorganismos poseen la

habilidad de causar o cambiar la concentración de hormonas en la planta, así mismo fijan simbióticamente N_2 , son antagonistas contra microorganismos fitopatógenos y solubilizan fosfatos, minerales y otros nutrientes (Sotelo et al., 2012).

1.3.1. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal

Paredes (2014), menciona que, “existen diversas investigaciones sobre las rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas, es por ello que buscan alternativas para disminuir el uso de fertilizantes químicos, con el fin de encontrar opciones más amigables con el medio ambiente y productividad de las especies vegetales”.

En años recientes, se ha retomado el interés de utilizar bacterias promotoras de crecimiento en la producción de cultivos. Estas bacterias tienen la capacidad de colonizar las raíces y estimular el rendimiento como el crecimiento de los cultivos (Diaz, Ferrea, Almaraz & Alcantar, 2001). La forma de inoculación de rizobacterias sobre las plantas es versátil y sencilla, ya que pueden ser aplicadas en la semilla, raíz o en el suelo.

Entre los métodos de inoculación de las rizobacterias, destacan las microcápsulas, (Figura 3), las cuales, han demostrado ser más eficientes que la forma líquida, debido a su cualidad de proveer protección a los microorganismos contra el estrés ambiental y estabilidad a las células bacterianas, permitiéndoles sobrevivir por más tiempo en la rizosfera de las plantas (Hernández, Chiquito, Castillo, Chiquito, Vidal & Beltrán, 2018). Por lo tanto, los efectos de diferentes métodos de inoculación de especies rizobacterianas, facilitan la expresión de sus cualidades como agentes promotores del crecimiento y productividad en plantas (Bravo & Jimenez, 2009).

La respuesta de las plantas ante la inoculación está en función a diversos factores como, la especie de rizobacteria, el hospedero, tipo de suelo, condiciones ambientales, concentración del inoculo y modo de inoculación (Hernandez et al., 2018). Además, depende de las compatibilidades funcionales en la fisiología y en la bioquímica de la interacción

(bacteria – planta) (Cano, 2011). De esta manera, los metabolitos que absorben las raíces, como vitaminas, enzimas y otros compuestos beneficiosos obtenidos por estas bacterias, estimulan el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Figura 3.

Inoculación de rizobacterias por medio de microcápsulas.



Nota: Adaptado de Hernandez et al. (2018). El método de microcápsulas mejora el efecto de las rizobacterias, porque confieren a las células bacterianas estabilización, protección, incremento poblacional y liberación progresiva entorno a la rizósfera de las plantas.

1.3.2. Microencapsulación: Inoculante de alginato

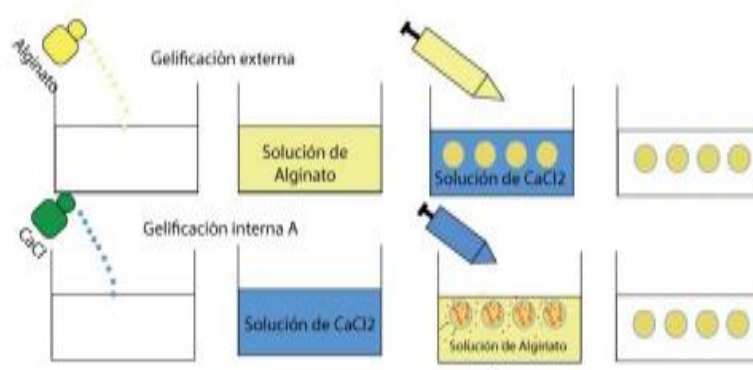
La microencapsulación es una técnica que está conformada por partículas con una membrana polimérica de alginato de sodio. La encapsulación de microorganismos permite el aislamiento físico y, proporciona protección contra factores de medio ambiente o componentes fisicoquímicos del suelo, permitiendo la liberación gradual del agente encapsulado (Caicedo & Chamba, 2016). Los encapsulados pueden ser utilizados en la industria farmacéutica, alimenticia, médica y agrícola.

El alginato es uno de los polímeros naturales compuestos de ácido D-manurónico y ácido L-glucurónico, y puede extraerse de diferentes macroalgas, así como de varias bacterias; pues forma una matriz altamente versátil, biocompatible y no tóxica para los

componentes activos, células o microorganismos sensibles al calor, pH, oxígeno y luz, entre otros factores (Hernández, Hinojosa, Salazar, Garcia, Rodriguez & Quiroz, 2018). La gelificación consiste en suspender el compuesto que se va a encapsular en la solución acuosa de alginato sódico, adicionando por medio de goteo sobre una solución acuosa de cloruro de calcio (Caicedo & Chamba, 2016). La microencapsulación se da por diferentes métodos de gelificación iónica, ya sea de manera externa e interna (Figura 4).

Figura 4.

Mecanismos de gelificación iónica externa e interna.



Nota: Adaptado de Caicedo & Chamba (2016). Gelificación iónica externa: consiste en introducir la solución de alginato, en una solución con iones calcio, provocando una formación de gel. Mientras que gelificación iónica interna: se basa en la liberación controlada de la sal de calcio en la solución de alginato de sodio, la cual debe estar previamente soluble o dispersa en el polímero.

CAPÍTULO 2 (OBJETIVOS)

2.1. Objetivo general del proyecto

Evaluar el desarrollo fisiológico de esquejes de *Duranta* sp., bajo diferentes aplicaciones bacterianas.

2.2. Objetivos específicos del proyecto

- Verificación de la viabilidad de las bacterias PGPR encapsuladas.
- Determinar el efecto de las bacterias PGPR aplicadas en forma encapsuladas sobre características fenológicas de *Duranta* sp.

Capítulo 3. (Materiales y métodos)

El estudio experimental fue realizado en dos etapas: (1) en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL), la cual consistió en la obtención, reactivación, incremento de la biomasa y encapsulación de las bacterias promotoras de crecimiento, (2) realizada en el vivero Municipal de la Ciudad de Loja, donde se aplicó las bacterias encapsuladas a las plantas (esquejes) de *Duranta* sp. para evaluar los procesos fenológicos de enraizamiento y de desarrollo de las plántulas.

3.1. Fase experimental: Laboratorio

3.1.1. Obtención y reactivación de bacterias PGPR

Las dos cepas bacterianas: *Streptomyces* sp. (B1=E4-13) y *Bacillus* sp. (B3=E4-8), fueron proporcionadas por la colección de microorganismos de la UTPL.

Una vez obtenidas las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, se procedió a descongelarlas a temperatura ambiente, después fueron sembradas por el método de siembra en cuadrantes en medio de cultivo Tripticasa Soya Agar (TSA), (UNAM, 2014). Las cajas, una vez inoculadas, se incubaron a 30°C durante 4 a 8 d, el tiempo del crecimiento de las cepas de *Bacillus* y *Streptomyces* varían entre ellas. Una vez verificado el crecimiento se realizó la técnica de tinción Gram, para confirmar morfología de las cepas bacterianas.

3.1.2. Incremento de la biomasa bacteriana

Una colonia bacteriana fue inoculada en caldo Tripticasa de Soya (TSB), incubando a 30°C, por un periodo de 24 h. Posteriormente, se centrifugó a 1000 rpm por 15 min para obtener un pellet bacteriano y reconstruirlo en alginato estéril (Ampuero, 2016).

3.1.3. Microencapsulación

La concentración de *Streptomyces* sp. se ajustó a 1×10^{10} UFC/mL, mientras que *Bacillus* sp. a 1×10^{11} UFC/mL, en un volumen final de 50 mL con TSB previamente esterilizado

y luego se centrifugó (1000 rpm, por 15 min, a 4 °C) para recuperar las células bacterianas. Los sedimentos bacterianos se resuspendieron en un tubo de 50 mL estéril que contenía 50 mL de esterilización previamente (15 min, 121 ° C) alginato de sodio al 2% (Lalaymia, Cranenbrouck, Draye, Declerck., 2012).

La preparación de las bacterias se dio en base a los tratamientos a evaluar en campo (vivero). Los tratamientos realizados fueron: Tratamiento 1: plántula + *Streptomyces* sp., Tratamiento 2: plántula + *Bacillus* sp., Tratamiento 3: control plántula (Tabla 1).

Cada tratamiento y por igual fue atrapado en perlas de alginato mediante el uso de micropipetas (T-1000, Axygen) y vertido en una solución esterilizada previa (15 min, 121 ° C) de cloruro de calcio al 0.1 M, mantenida bajo agitación constante durante 30 min. Las perlas de alginato se tamizaron posteriormente en un tamiz estéril de 1 mm y se enjuagaron con agua desionizada esterilizada previa (15 min, 121 ° C), las mismas que fueron almacenadas en refrigeración a 4°C por 4 meses (Lalaymia et al., 2012).

3.1.4. Evaluación de unidades formadoras de colonias (UFC) después de encapsulación

Para evaluar las UFC de las bacterias encapsuladas, se colocó una perla de alginato en ácido cítrico estéril al 1% diluido en un tubo eppendorf 15 mL, para después colocarlo sobre un shaker a 250 rpm por 30 min, una vez diluido se procedió a hacer la dilución 1:10, (100 uL de muestra en 900 uL de agua estéril) y finalmente se las sembró por duplicado en medio TSA por la técnica de extendido en placa. Las cajas inoculadas fueron incubadas por 24 h a 30°C (De La Cruz & Terán, 2013).

3.1.5. Confirmación de viabilidad de bacterias PGPR en cápsulas deshidratadas

Para verificar el crecimiento de las bacterias, se realizó un ensayo con gelatina sin sabor más azúcar, se colocó el agar en cajas Petri y una vez gelificado, se procedió a ubicar 4 cápsulas deshidratadas de cada bacteria, a temperatura ambiente por 24 h.

3.2. Fase experimental: Vivero

3.2.1. Obtención y enraizamiento de los esquejes de *Duranta sp.*

Las plántulas de *Duranta sp.* fueron obtenidas en el vivero Municipal de Loja. Cada esqueje se cortó a nivel de la base del tallo y ramas principales, el tamaño de estos esquejes fue entre 4 a 12 cm. Para plantar los esquejes se hizo un corte lateral en bisel en la base del tallo, se los sembró directamente en el sustrato, con una relación 3:1:1:1, (tierra, arena, tamo de arroz y humus) a una distancia de entre 4 a 6 cm uno del otro, una vez plantados los esquejes fueron dejados con una malla-sombra (Zaran) para mantener el sustrato húmedo y para evitar la intensidad de la luz solar.

3.2.2. Inoculación de bacterias PGPR

Se realizó el ensayo en 45 plántulas, considerando a cada plántula o esqueje como una unidad experimental o repetición (tabla 1). En cada esqueje se inoculó 4 cápsulas de alginato de sodio deshidratadas, a 1 cm de distancia.

Tabla 1.

Descripción de los tratamientos de bacterias PGPR.

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Número total de esquejes	Cápsulas de alginato por esqueje
T1	<i>Streptomyces sp.</i> + plántula	15	4
T2	<i>Bacillus sp.</i> + plántula	16	4
Control	Plántula	14	0

Nota: En el tratamiento 1 se colocó 60 cápsulas de alginato, mientras que en el tratamiento 2 se colocó 64 cápsulas de alginato, en excepción del control.

3.2.3. Verificación del microbiota inoculada.

Variables evaluadas

Se evaluaron los parámetros cada 15 d a cada uno de los esquejes de todos los tratamientos, la evaluación fue por 2 meses después de la inoculación. Las variables evaluadas fueron: altura, diámetro del tallo, número de brotes, y longitud de raíz; así mismo se realizó el riego y manejo en general del cultivo de manera continua y similar en los tres tratamientos.

Los métodos de las variables de evaluación se detallan a continuación:

- **Altura de la planta:** Se hizo la medición cada 15 d desde la base del tallo, hasta el eje principal, de acuerdo con el tratamiento y repetición (Lozada & Rivas, 2010).
- **Diámetro:** Al igual que la altura, esta variable se midió cada 15 d después del trasplante, aproximadamente a la mitad del tallo, expresado en cm (Lozada & Rivas, 2010).
- **Número de brotes:** Esta variable se la midió cada 20 d, de acuerdo con el crecimiento y la altura de las plántulas (Lozada & Rivas, 2010).
- **Longitud de la raíz:** Esta variable se la evaluó a los 60 d a cada esqueje, luego se lo midió con una regla, expresado en cm (Díaz, Ferrera, Almaraz, Alcántar, 2001).

3.2.4. Análisis estadístico

Para establecer diferencias estadísticas significativas en los parámetros medidos (campo), se comprobó la normalidad o no de los datos con pruebas de homogeneidad KS, una vez con ello (datos normales), se aplicó ANOVAS de una vía respectivamente, a un nivel de significancia $p < 0,05$. Para estos análisis, se utilizó el software estadístico SPSS 24,0.

Capítulo IV (Resultados y discusión)

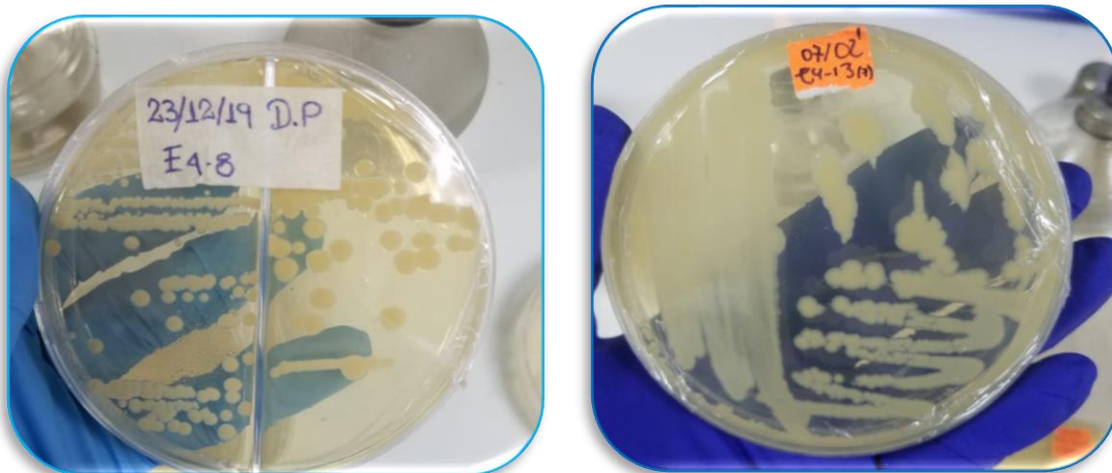
4.1. Fase Laboratorio

4.1.1. Reactivación y crecimiento bacteriano en medios TSA y TSB

Al momento que se realizó la reactivación de las cepas bacterianas en el medio de Tripticasa Soya Agar (TSA), se pudo describir y observar (macroscópicamente), que las bacterias varían en el tiempo de crecimiento, de manera que las colonias de *Bacillus* sp. (figura 5A), aparecieron de 24 a 48 h, dando un eficaz crecimiento, mientras que el tiempo de aparición de las colonias de *Streptomyces* sp. (figura 5B) era de 48 a 120 h, lo que, posiblemente se deba a la diferente velocidad de crecimiento propias de cada cepa bacteriana.

Figura 5.

Observación macroscópica del crecimiento de las cepas.



Nota: **Figura A**, Colonias de *Bacillus* sp. se presentan de color crema, forma irregular, apariencia ondulada. **Figura B**, *Streptomyces* sp. muestra colonias cremas, de borde entero, con una apariencia pulverulenta.

Los resultados macroscópicos del presente estudio son corroborados por Calvo & Zúñiga (2010), quienes mencionan que, las características propias de las colonias del género

Bacillus sp. son de color crema, forma irregular, con bordes que varían entre; aserrados, ondulados y lobulados, además, su consistencia se puede presentar seca o cremosa y ligosa. Asimismo, Ampuero (2016), señala que, de acuerdo con la observación de las colonias de *Streptomyces* sp. el tiempo de crecimiento va a variar de acuerdo con el pasar de los días, en este caso coincide con los 3 a 6 d, en donde se forman colonias con bordes blanco entero, con superficie lisa y con apariencia pulverulenta.

Estudios elaborados por Orberá et al. (2005), concuerdan con los resultados obtenidos en la fase de laboratorio de este trabajo, lo que puede deberse a que, favorablemente las bacterias PGPR crecen en diversos medios de cultivos, como por ejemplo, algunas especies de *Streptomyces* sp. presentan colonias duras, brillantes, y pálidas en agar nutritivo (Correa, 2008). El género *Bacillus* sp. se destaca por su crecimiento en las condiciones óptimas de 26-30 °C de temperatura y pH neutro (Villarreal et al., 2018). Razón por la cual, se comprobó que el crecimiento de las colonias bacterianas incubadas en 30°C, coinciden con lo que se logró observar aquí, tomando en cuenta la textura, la forma y el tamaño de las colonias de las dos bacterias evaluadas (*Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp.).

Realizada la reactivación de las bacterias, se estableció la producción del inóculo bacteriano en Caldo Tripticasa Soja (TSB), los resultados indican (figura 6), que hubo crecimiento con apariencia de turbidez durante 4 a 7 d, ajustando a *Streptomyces* sp. 1×10^{10} UFC/mL, mientras que *Bacillus* sp., a 1×10^{11} UFC/mL.

Figura 6.

Concentración de la biomasa bacteriana



Nota: Presencia de turbidez en caldo TSB. **Figura A.** Cepa bacteriana E4-8 (*Bacillus* sp.)

Figura B. Cepa bacteriana E4-13 (*Streptomyces* sp.)

El incremento de biomasa del inóculo bacteriano, se lo observó a las 48 h, dando como indicativo de que las colonias bacterianas inoculadas en el caldo efectuaron una alta concentración de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por medio de las diluciones.

La fase de producción fue determinada por medio de la observación directa del microorganismo, la cual fue realizada microscópicamente a través de la coloración de Gram; dando que en *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp. se pudo notar la forma, tamaño y la coloración de tono violeta, indicativo de ser Gram positivas, dando como resultado su forma bacilar de distintos tamaños. Resultados similares coinciden con lo reportado por Realpe, Hernández, & Agudelo (2002), indicando que, “*Bacillus* sp. en su morfología microscópica presentó bacilos Gram positivos, de 1.3 mm de diámetro por 3 a 5 mm de largo, con bordes redondeados, que forman cadenas cortas”. Así mismo, Méndez, Flores & Páramo (2017), en su investigación demostraron diferentes cepas del género *Bacillus* sp. sometidos a pruebas de tinción de Gram.

La investigación realizada por Guevara (2017), señala que, “todas las bacterias del género *Streptomyces* sp. aisladas y purificadas resultaron Gram positivas, es decir que poseen una pared celular gruesa con varias capas interconectadas de peptidoglicano, el cual

tiene afinidad por el colorante crista violeta". Esta prueba también nos permitió identificar y diferenciar la morfología celular de las cepas de *Streptomyces* sp. de este estudio.

De acuerdo con los estudios antes mencionados, se destaca la importancia de realizar tinciones Gram, tanto para confirmar las especies de las bacterias, como para observar su coloración y definir si son grampositivas o gramnegativas. Los resultados que se obtuvieron de los géneros de *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp. concuerdan con los estudios de los autores antes mencionados, y cabe indicar que estos ensayos revelan que es posible considerar que las cepas evaluadas además de ser utilizadas como un fertilizante, también, podrían utilizarse como una alternativa en el control biológico, mediante la aplicación individual o en mezcla para obtener una mayor eficiencia en el control de estos, tal como lo comenta, López (2013), que la aplicación de estas bacterias ayudan a controlar plagas y enfermedades en las plantas y cultivos agrícolas.

4.1.2. Eficiencia del encapsulado de *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp.

Con la finalidad de medir la eficiencia del encapsulado, se evaluó dos variables en la sobrevivencia de las bacterias. La primera se determinó mediante la cuantificación de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por mL de microcápsula, para poder definir las como la cantidad de células presentes en las microcápsulas (UFC/mL). En la segunda variable se definió para valorar la viabilidad del microorganismo ya encapsulado, disolviéndolo con ácido cítrico al 1% a través de las UFC cuantificadas en las microcápsulas. Es importante conocer la cantidad de células presentes para poder tener un control de las UFC inoculadas (De La Cruz & Terán, 2013).

Como se puede observar en la tabla 2, los cálculos realizados por duplicado indican que con una concentración promedio inicial de *Bacillus* sp. es de 1×10^{11} UFC/mL, se obtuvo una concentración final de 1×10^8 UFC/mL. Mientras que *Streptomyces* sp. inicio con una concentración de 1×10^{10} UFC/mL y después o al final presento una concentración de 1×10^7 UFC/mL, por lo que se puede indicar que las microcápsulas elaboradas y evaluadas en el

presente estudio, mostraron una buena viabilidad de las cepas de *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp. siendo posible su uso en la fase de campo (vivero).

Tabla. 2.

Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por ml de microcápsulas.

BACTERIAS PGPR	UFC (ANTES DE ENCAPSULAR)	UFC (ENCAPSULADAS)
Bacteria <i>Bacillus</i> sp.	7.3×10^{11} UFC/mL	$5,0 \times 10^8$ UFC/mL
Bacteria <i>Streptomyces</i> sp.	$5,4 \times 10^{10}$ UFC/mL	$3,3 \times 10^7$ UFC/mL

Los resultados en cuanto al encapsulamiento obtenidos, son similares a lo reportado por Andrade & Avellan (2020); De La Cruz & Terán (2013). La buena viabilidad de las cepas bacterianas posiblemente se debe a la protección adecuada que le confiere el material de recubrimiento, además, las concentraciones de las bacterias encapsuladas cumplen con los rangos establecidos para poder tener un mayor efecto funcional de la bacteria a la planta, para lo que es necesario que se encuentre en concentraciones de hasta 10^8 UFC/mL.

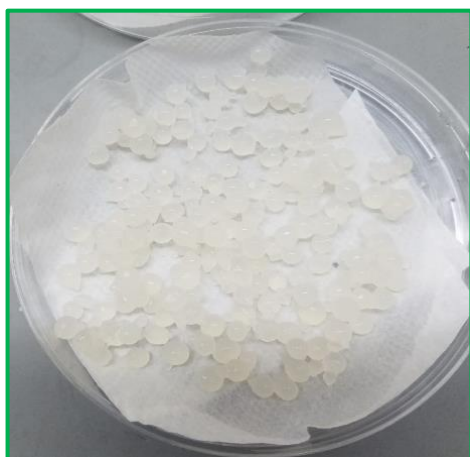
Los tratamientos de las microcápsulas efectuados por las poblaciones de UFC, muestran que el método de microencapsulación es eficaz, ya que al momento de aplicar las rizobacterias *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp. facilitan la liberación de las células, mejoran su adhesión y colonizan las raíces, presentando un mejor efecto como agentes promotores del crecimiento vegetal (Hernandez et al., 2018).

Luna, López & Jiménez (2007), indican que, "existen diversas metodologías para producir encapsulados, las mismos que varían de acuerdo con el tamaño, biocompatibilidad y la biodegradación que necesite en la partícula. Las microcápsulas se presentan de diferentes tamaños y formas de acuerdo con los materiales y métodos utilizados, éstas pueden variar desde partículas submicrométricas hasta varios milímetros".

El micro encapsulado formado con una mezcla de alginato al 2% y cloruro de calcio al 0.1 M., resulto dar la condición ideal a las cápsulas, ya que estas no se adhirieron entre ellas, conservando su forma y su facilidad de manipulación (figura 7A), al observar los resultados de las microcápsulas se pudo apreciar sus formas redondas, amorfas, con tamaños promedios 7 mm. Sin embargo, cabe mencionar que, las microcápsulas fueron almacenadas en refrigeración a 4°C por 4 meses, esto debido al confinamiento por COVID 19, por ello que se presentaron un tanto deshidratadas, con forma amorfa y de color café (figura 7B) al momento de su aplicación, lo cual esto se debe a factores asociados a la temperatura ejercida y al tiempo de almacenamiento.

Figura 7.

Microcápsulas de alginato + bacterias PGPR



Nota: Las microcápsulas preparadas mediante el método gelificación iónica externa, **Figura A.** Microcápsulas hidratadas, **Figura B.** Microcápsulas deshidratadas.

La concentración de alginato toma un papel importante en la formación de las microcápsulas, ya que con una concentración baja no se consolidan y quedan adheridas al papel filtro como una película delgada. Por lo que la concentración de 2%, formó partículas que al secarse permanecen y son manejables. Así mismo, la concentración de cloruro de calcio no es determinante en el proceso, al 1M y en 15 min es suficiente, mientras que a 0.1M las microcápsulas requieren permanecer por más tiempo en la solución, como en este caso

(30 min). Para la formación de las microcápsulas, el pH aparentemente no tiene efecto alguno, ya que independientemente del mismo, las partículas no pierden sus propiedades o forma.

Estudios realizados por Parra (2011), han mostrado que cultivos inmovilizados de alginato de sodio son los mejores protectores para la sobrevivencia de bacterias bajo diferentes condiciones de ensayo, en comparación de aquellas bacterias que fueron probadas en el estado no encapsulado. Por otra parte, Hernández et al. (2018), mencionan que, las bacterias *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp. no forman esporas de resistencia, por lo cual se vuelven más susceptibles a deshidratarse. Por esta razón la combinación de las concentraciones de los componentes de alginato de sodio y cloruro de calcio, fueron muy eficientes y no mostraron mayores exigencias, ya que una de las principales características es la facilidad e inocuidad del proceso, sin influencia alguna de factores medioambientales.

Por consiguiente, la eficiencia de las microcápsulas con alginato durante el almacenamiento a 4°C demostró que *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp. se mantuvieron viables durante los 4 meses en refrigeración, comprobando esto mediante 2 formas, primero se introdujo las micropartículas deshidratadas en agua por 2 meses, éstas no se disolvieron, por lo que se determina que no existe liberación de la bacteria encapsulada, más bien se tuvo un excelente resultado como es su hidratación, permitiendo que las cápsulas vuelvan a tener su forma inicial. Por otra parte, al colocar las microcápsulas deshidratadas en la gelatina sin sabor más azúcar, se pudo apreciar que, dentro de 24 h, estas presentaron un buen crecimiento e hidratación, por lo que se confirmó que las bacterias permanecen vivas en las microcápsulas y es una manera de conservar las cepas bacterianas.

Los resultados obtenidos son similares a los que han sido reportados por Herrera (2016), y Andrade & Avellan (2020), en donde demuestran que las cápsulas sometidas al agua, presentan una buena estabilidad debido a su hidrosolubilidad, y no permite su propagación bacteriana, ni formación de colonias. Igualmente, cuando las microcápsulas

deshidratadas se colocaron en las cajas con agar, se logró recuperar el tamaño, las bacterias del medio y comprobar la formación de un halo alrededor.

4.2. Fase de campo (vivero)

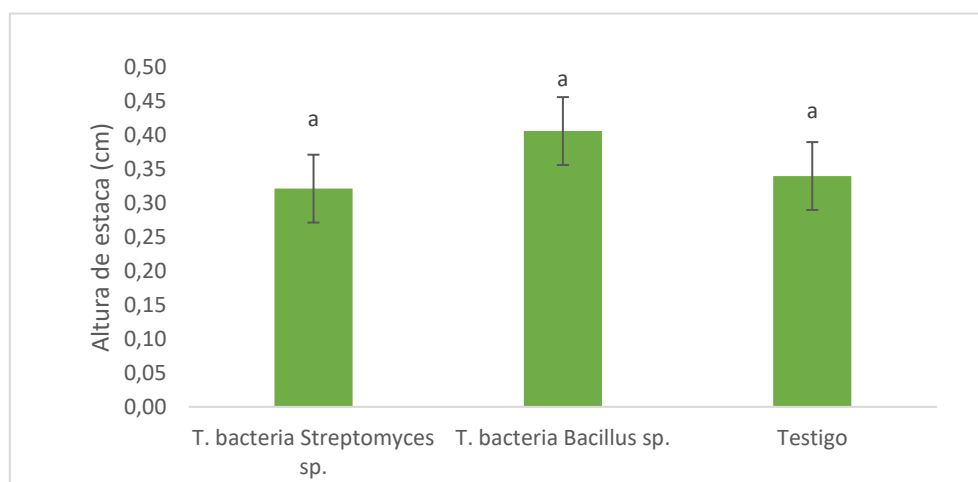
Las variables analizadas en nuestro estudio fueron la altura de la planta, el diámetro de tallo, número de brotes y la longitud de raíz.

Altura de la planta

La figura 8, muestra la ganancia de altura entre el día 1 y día 60 en los diferentes tratamientos evaluados. Podemos apreciar que no se muestra diferencia estadística significativa entre la aplicación de las bacterias promotoras de crecimiento *Streptomyces* sp., *Bacillus* sp. y tratamiento testigo. Sin embargo, también se puede observar que el tratamiento de la bacteria *Bacillus* sp. es la que logró una mayor ganancia de altura entre los tres tratamientos evaluados. Siendo superior con 0,11 cm mayor a *Streptomyces* sp. y 0,07 cm mayor al tratamiento testigo.

Figura 8.

Altura ganada en las estacas de la especie Duranta sp. entre el inicio y final de experimento (60 días).



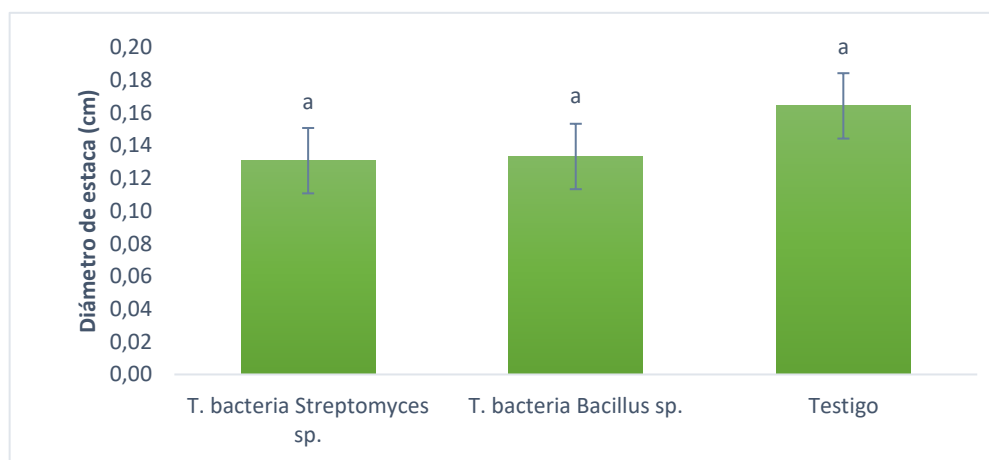
Nota: Las barras representan el promedio de altura ganada por tratamiento. Las barras superiores representan el error estándar y las letras minúsculas muestran diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

✚ Diámetro

La figura 9, detalla el diámetro final al día 60 de los esquejes de los diferentes tratamientos evaluados. Podemos apreciar que no se muestra diferencia estadística significativa entre ellos. Sin embargo, también se puede observar que el tratamiento testigo es el que tuvo un mayor diámetro entre los tres tratamientos. Siendo superior con 0,03 cm mayor a *Streptomyces* sp. y *Bacillus* sp.

Figura 9.

Diámetro ganado en las estacas de la especie Duranta sp. entre el inicio y final de experimento (60 días).



Nota: Las barras representan el promedio del diámetro ganado por el tratamiento. Las barras superiores representan el error estándar y las letras minúsculas muestran diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

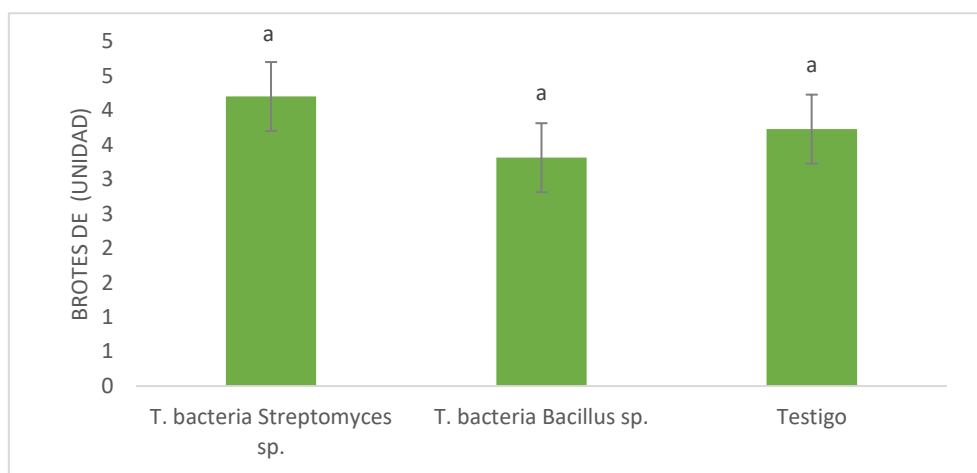
✚ Número de brotes

La figura 10, da a conocer el número de brotes obtenidos en los 60 días de evaluación en los tres tratamientos evaluados. Podemos apreciar que tampoco se muestra diferencia

estadística significativa entre la aplicación de las bacterias promotoras de crecimiento *Streptomyces* sp., *Bacillus* sp. y tratamiento testigo. Sin embargo, el tratamiento de la bacteria *Streptomyces* sp. es la que se ve un mayor número de brotes, siendo superior con 0,88 brotes mayor a *Bacillus* sp. y 0,47 brotes mayor al tratamiento testigo.

Figura 10.

Los brotes ganados en las estacas de la especie Duranta sp. entre el inicio y final de experimento (60 días)



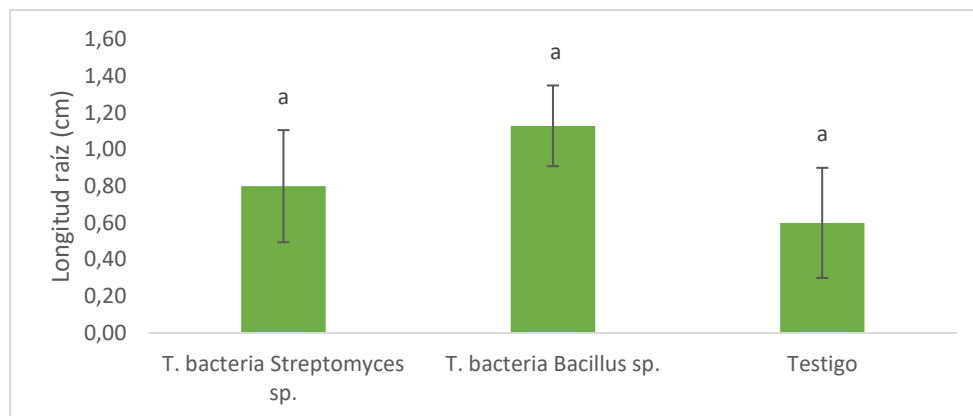
Nota: Las barras representan el promedio de los brotes obtenidos por tratamiento. Las barras superiores indican el error estándar y las letras minúsculas muestran las diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

🚦 Longitud de raíz

La figura 11, indica longitud de la raíz entre en el día 60 de los tratamientos evaluados. Así también, al igual que las otras variables, no se presenta diferencia estadística significativa. No obstante, el tratamiento de la bacteria *Bacillus* sp. es la que muestra visualmente una mayor longitud de raíz. Siendo superior con 0,32 cm a *Streptomyces* sp. y 0,52 cm mayor al tratamiento testigo.

Figura 11.

Longitud de la raíz ganada en las estacas de la especie Duranta sp. entre el inicio y final de experimento (60 días).



Nota: Las barras representan el promedio de la longitud de la raíz ganada por tratamiento. Las barras superiores señalan el error estándar y las letras minúsculas muestran diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p < 0,05$)

4.2.1. Efecto de los microencapsulados de *Bacillus sp.* y *Streptomyces sp.* en el desarrollo fenológico de *Duranta sp.*

La aplicación de las bacterias promotoras del crecimiento habitualmente ayudan de manera positiva a las plantas, contribuyendo en el crecimiento, desarrollo y beneficio de muchos cultivos agrícolas, como pastos, leguminosas y cereales (Villegas et al., 2010). Por tal motivo, la inoculación de las rizobacterias encapsuladas se torna en una forma versátil y sencilla de aplicación, ya que pueden ser colocadas directamente en el suelo, como en la semilla, o la raíz. Además, la inoculación de las bacterias en presencia de NaCl favorece en los diversos procesos fisiológicos de las plantas, debido a la producción de hormonas, a la velocidad del metabolismo, así como en el desarrollo de la raíz hospedada según (Villegas et al., 2010).

En este caso, la aplicación de las microcápsulas de las dos bacterias en las plántulas de *Duranta* sp. no mostraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre ellas ni con el testigo, deduciendo que estadísticamente ningún tratamiento es mejor que otro durante los 60 d en la que se realizó la medida de las diferentes variables en los esquejes de *Duranta* sp. Sin embargo, se pudo observar que entre el testigo y los tratamientos inoculados si hay diferencias observacionales en el desarrollo de los esquejes (figura 8). Detallando se puede indicar que: el tratamiento 1 (*Streptomyces* sp.) de las 15 plántulas de *Duranta* sp. 3 se enraizaron, y 2 se secaron, mientras que en el tratamiento 2 (*Bacillus* sp.) de las 16 plántulas, 7 presentaron raíz, y en cambio en el tratamiento 3 (testigo) de 14 plántulas se observó que 5 de ellas tuvieron su enraizamiento y 3 se secaron, por lo tanto, se muestra un mejor resultado en el tratamiento 2 (*Bacillus* sp.).

Figura 12.

Plántulas de Duranta sp., en sus 3 tratamientos.



Nota: Tratamiento 1: Plántula + Bacteria *Streptomyces* sp., Tratamiento 2: Plántula + Bacteria *Bacillus* sp. y Tratamiento 3: Plántulas testigo.

La aplicación de *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp. inoculadas en las plántulas de *Duranta* sp. han presentado una influencia positiva en el desarrollo de la altura, número de brotes y longitud de raíz, es por ello que se obtuvo un mayor crecimiento frente a las no inoculadas (testigo), corroborando con ello la efectividad que presentan estas cepas bacterianas en el desarrollo del cultivo. Este estudio refuerza los resultados de la investigación de Montero (2016) y Yaselga (2015), en donde dicen que, el sustrato, el adecuado riego, controlan completamente plagas y enfermedades. Así como la desinfección adecuada del suelo que favorece el enraizamiento de las plántulas, lo que promueve adaptabilidad directamente relacionada con el porcentaje de prendimiento de las plantas.

Además, los resultados coinciden con lo reportado por Hernandez et al. (2018), en donde comentan que diferentes investigadores han realizado estudios similares en diferentes cultivos, como Sivakumar et al. (2014), que al evaluar el efecto de *Bacillus* sp. las microcápsulas de alginato y suplementadas en plantas de arroz, obtuvieron diferencias significativas en germinación de semillas, longitud de raíz y altura de tallo en relación a las plantas testigo. Por otra parte, Schoebitz et al. (2013), menciona que las plantas de trigo inoculadas con microcápsulas de alginato de sodio contribuyen de forma positiva a las variables de la altura, biomasa seca y contenido foliar, de manera que los encapsulados mejoran el efecto de las rizobacterias brindándoles estabilización, protección, incremento poblacional y liberación progresiva entorno a la rizósfera de las plantas. Rekha et al. (2007), evaluó el efecto de las rizobacterias en las plantas de lechuga mediante la inoculación con microcápsulas de alginato de sodio y en suspensión líquida, en ambas formas mostraron incrementos significativos en longitud radical y altura de tallo con relación a las plantas testigo, concluyendo que, la inoculación de las plantas por medio de encapsulados promueve el crecimiento vegetativo, por lo cual, podría ser factible para su aprovechamiento en la industria agrícola (pp. 4228 - 4229).

Así mismo, Díaz et al. (2001), hace referencia su estudio del crecimiento de lechuga, en el desarrollo de la raíz, por medio de la inoculación de las bacterias, las mismas que se han manifestado en mayor crecimiento de la parte aérea del cultivo; destacando la importancia de las variables evaluadas en la parte aérea y en la raíz del cultivo. Es por ello que, Pereira et al. (1988) y Kloepper et al. (1991), sugirieron que las bacterias promotoras de crecimiento, se identifican por su aumento en el desarrollo radical, lo que implica directamente en el rendimiento del cultivo.

Paredes (2014), menciona que "las rizobacterias *Bacillus sp.* y *Streptomyces sp.* influenciaron positivamente en el desarrollo vegetativo de maíz, en condiciones de campo, incrementando la altura, número de hojas y diámetro de tallos. De igual manera, con *Bacillus sp.* se ha reportado en maíz incremento en la germinación y, así como también incremento de la biomasa radicular y aérea. Con *Streptomyces sp.* se ha registrado en maíz incremento del poder germinativo, emergencia y biomasa radical y aérea" (p. 48). Coincide con Pérez (2012), quien inoculó bacterias PGPR; *Pseudomonas tolassi*, *Bacillus pumilus* y *Streptomyces cuspidosporus*, durante la siembra y trasplante de *Cucumis sativus* L. "Pepino" obtuvo los mayores valores de altura de planta y rendimiento. Estas bacterias han sido estudiadas, con resultados prometedores no solo en el cultivo de maíz, sino también en papas, piñones blancos, plátano y tomate.

Cabe mencionar de manera general, que este caso a los 60 d de evaluación, los esquejes de *Duranta sp.* empezaron a presentar diferencias en su comportamiento de desarrollo general, por lo que, se podría asumir, que, con el trascurso de un mayor número de días en su evaluación, las dos bacterias sí podrían presentar diferencias significativas en su desarrollo, frente al tratamiento control.

Conclusiones

Las poblaciones de UFC presentes en los tratamientos con microcápsulas mostraron que esta técnica de microencapsulación tiene una mayor eficiencia, ya que al inocularla facilita la liberación y mejora la colonización de las raíces en las plantas, de manera que el encapsulado no presenta reducción significativa en la concentración bacteriana.

Los resultados conseguidos de los 3 tratamientos aplicados reflejan que no hay diferencias significativas. Todos revelaron comportamientos similares en las variables analizadas. Así también, se puede apreciar que los tratamientos aplicados desempeñaron un buen desarrollo fenológico, sin embargo, se podría decir, el tratamiento que mejor resultado presentado de manera observacional, fue el de la bacteria *Bacillus* sp. la misma que obtuvo un buen rendimiento en la altura y en su enraizamiento, además es catalogada como una de las bacterias benéficas que ayudan a que las plantas tengan un buen crecimiento y desarrollo.

Recomendaciones

Evaluar los elementos que puedan afectar la viabilidad de las bacterias y con esto su efecto sobre las plantas, así mismo realizar estudios sobre los factores externos que se pueden presentar en las condiciones del lugar que se va a utilizar.

Es necesario tener en cuenta los factores de cada variable a evaluar, así como también, se debe controlar o evaluar por mayor número de días o tiempo, para obtener mejores resultados e incluso para mejor desarrollo de la planta, así mismo para evitar susceptibilidad a enfermedades y plagas.

Referencias

- Ampuero, A. (2016). *EVALUACION DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE STREPTOMYCES SP. 6E3 AISLADO DE MINERALES FRENTE A STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILINO RESISTENTE.*
- Andrade, D., & Avellan, A. (2020). *Inoculación de un consorcio microbiano autóctono encapsulado con capacidad celulolítica para la producción de compost de calidad en Manabí-Ecuador.*
- Avena, A., Ochoa, H., & Castro, R. (2018). *Catálogo de Angiospermas.*
- Avilés, Y., Pupo, Y., Viera, Y., Rosabal, Ú., Guardia, Y., Sangoquiza, C., & Naranjo, E. (2018). Enhancement of Growth Potential of *Duranta repens* L. by Ethanolic Extract Fractions of the Cleome gynandra L. *Asian Journal of Advances in Agricultural Research*, 5(1), 1–12. <https://doi.org/10.9734/ajaar/2018/38390>
- Bravo, I., & Jimenez, C. (2009). *Inoculates microbianos* (p. 9).
- Caicedo, D., & Chamba, M. (2016). *Elaboración y estandarización de microencapsulados de aceites esenciales de hierba luisa (Cymbopogon citratus) y hojas de ishpink (Ocotea quixos) como aditivos nutricionales para piscicultura.*
- Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA DE CEPAS de Bacillus spp. AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DE PAPA (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*, 9(1–2), 31. <https://doi.org/10.21704/rea.v9i1-2.393>
- Cano, M. (2011). A REVIEW OF INTERACTION OF BENEFICIAL MICROORGANISMS IN PLANTS: *Mycorrhizae*, *Trichoderma* spp. and *Pseudomonas* spp. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 15–31.
- Carreras, S. (2011). *Aplicaciones de la bacteria entomopatógena Bacillus thuringiensis en el control de fitopatógenos.*

- Correa, M. (2008). *Evaluación de caracteres PGPR en Actinomicetos e Interacciones de estas Rizobacterias con Hongos Formadores De Micorrizas.*
- Criollo, P. J., Obando, M., Sánchez M., L., & Bonilla, R. (2013). Efecto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a *Pennisetum clandestinum* en el altiplano cundiboyacense. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 13(2), 189. https://doi.org/10.21930/rcta.vol13_num2_art:254
- De La Cruz, A. V., & Terán, A. R. (2013). *Evaluación de la viabilidad de Lactobacillus casei libre y encapsulado en alginato sódico como probiótico en jugo de guayaba.* <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1785/3/AGI-2013-T012.pdf>
- Díaz, P., Ferrera Cerrato, R. ., Alvarez Suarez, J. J. ., & Alcantar Gonzalez, G. (2001). Inoculation of Plant Growth-promoting Bacteria in Lettuce. *Terra Latinoamericana*, 19(004), 327–335.
- Díaz, P., Ferrera, R., Almaraz, J. J., & Alcántar, G. (2001). Inoculation of Plant Growth-promoting Bacteria in Lettuce. *Terra Latinoamericana*, 19(004), 327–335.
- Echeverría, R. N. (2011). “*estudios de rizobacterias promotoras del crecimiento (pgpr) com oalternativa de aplicación a suelos con limitante sabióticas.*”
- Guevara, B. (2017). Aislamiento y caracterización morfológica de cepas nativas de actinomicetos y su actividad antagónica contra *Ralstonia solanacearum*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp. In *Escuela Agrícola Panamericana.*
- Hernández, J., Hinojosa, P., Salazar, Á., Garcia, J., Rodríguez, G., & Quiroz, J. (2018). THE CONSERVATION OF THE AGRICULTURAL USE BACTERIA *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* BY MICROENCAPSULACIÓN DE BACTERIAS DE USO AGRÍCOLA: *Revista Boliviana de Química*, 35(4), 117–122.
- Hernandez, L., Chiquito, R., Castillo, D., Chiquito, C., Vidal, L., & Beltran, F. (2018). Efecto de

- microcápsulas de *Pseudomonas putida* sobre crecimiento y rendimiento de pimiento morrón. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 20, 4223–4233.
- Herrera, N. (2016). *Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional “ Efecto de microorganismos encapsulados sobre la promoción de crecimiento de plantas en jal minero ”* .
- Lalaymia, I., Cranenbrouck, S., Draye, X., & Declerck, S. (2012). Preservation at ultra-low temperature of in vitro cultured arbuscular mycorrhizal fungi via encapsulation-drying. *Fungal Biology*, 116(10), 1032–1041. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2012.07.007>
- Lapaz, I. (2011). “ *Aislamiento e Identificación molecular de cepas de Streptomyces causantes de sarna común en la papa .*”
- López, N. (2013). *Efecto de aislados de los géneros S treptomyces y Bacillus como promotores de crecimiento vegetal en frijol (Phaseolus vulgaris L.)*.
- Lozada, L., & Rivas, C. (2010). *Evaluación del efecto de la inoculación con Azotobacter spp en plantas de ají dulce (Capsicum frutescens)*.
- Luna, J., López, J., & Jiménez, O. (2007). Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión Microencapsulation of some bioactive compounds through spray drying. *Revista Iberoamericana de Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 5, 11.
- Mantilla, C. L., Alvarez, A., & Zumaqué, L. O. (2013). Impacto de inoculación con la bacteria nativa azospirilum sobre oryza sativa l. en Córdoba–Colombia. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 11(2), 37–45.
- Méndez, J., Flores, M., & Páramo, L. (2017). AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *BACILLUS subtilis* Y EVALUACIÓN DEL ANTAGONISMO IN VITRO FRENTE HONGOS FITOPATÓGENOS. *Revista Científica*, 30(02), 96–110.

- Minga, D., & Verdugo, A. (2015). Árboles y arbustos de Cuenca. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9, pp. 1689–1699). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Orberá, T., Pérez, I., Ferrer, D., Cortés, N., & Gonzales, Z. (2005). AISLAMIENTO DE CEPAS DEL GENERO *BACILLUS* SP. CON POTENCIALIDADES PARA LA BIOPROTECCIÓN Y LA ESTIMULACIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL. *Revista Cubana de Química*, XVII, 189–195.
- Paredes, S. (2014). *Efecto de la aplicación de Bacillus y Streptomyces spp. nativas en el desarrollo vegetativo y rendimiento de Zea mays L., maíz, amarillo duro en Lambayeque.*
- Parra, R. (2011). *Revisión: Microencapsulación de Alimentos* (Vol. 63, Issue 2, pp. 5669–5684).
- Realpe, M., Hernández, C., & Agudelo, C. (2002). *Especies del género Bacillus: morfología macroscópica y microscópica* (pp. 106–109).
- Sotelo, I., Jiménez, J., Tarsicio de Zan, A., & Cueto, C. (2012). Efecto de inoculación de microorganismos en crecimiento de rábano (*raphanus sativus*). *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 10(1), 21–31.
- Tejera, B., Heydrich, M., & Mayra, R. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC: Ciencias Biológicas*, 42(3), 131–138.
- UNAM. (2014). Técnicas de siembra y de cultivo de bacterias y hongos. In *Protocolos de prácticas de Microbiología experimental* (pp. 1–135).
- Villarreal, M., Villa, E., Cira, L., & Estrada, M. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36, 95–130. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1706-5>

Villegas, J., Rueda, E., Murillo, B., Puente, M., Grimaldo, O., Áviles, S., & Ponce, J. (2010). efecto de la inoculación DE *Azospirillum halopraeferens* y *Bacillus amyloliquefaciens* EN LA GERMINACIÓN DE *Prosopis chilensis*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12(1), 19–32. <https://www.redalyc.org/pdf/939/93913074003.pdf>

Apéndices
Análisis estadísticos descriptivos

		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Altura_cm	T. bacteria Streptomyces sp.	14	,3214	,13688	,03658	,2424	,4005	,10	,50
	T. bacteria Bacillus sp.	16	,4063	,24622	,06156	,2750	,5375	,00	,80
	Testigo	15	,3400	,21314	,05503	,2220	,4580	,10	,70
	Total	45	,3578	,20504	,03057	,2962	,4194	,00	,80
Diámetro_cm	T. bacteria Streptomyces sp.	13	,1308	,06304	,01748	,0927	,1689	,10	,30
	T. bacteria Bacillus sp.	12	,1333	,04924	,01421	,1020	,1646	,10	,20
	Testigo	14	,1643	,08419	,02250	,1157	,2129	,10	,30
	Total	39	,1436	,06804	,01089	,1215	,1656	,10	,30
Brotes_unidad	T. bacteria Streptomyces sp.	10	4,2000	1,68655	,53333	2,9935	5,4065	2,00	6,00
	T. bacteria Bacillus sp.	16	3,3125	1,07819	,26955	2,7380	3,8870	2,00	5,00
	Testigo	11	3,7273	1,00905	,30424	3,0494	4,4052	2,00	5,00
	Total	37	3,6757	1,27048	,20887	3,2521	4,0993	2,00	6,00
Raíz_cm	T. bacteria Streptomyces sp.	3	,8000	,52915	,31551	-,5145	2,1145	40	1,40
	T. bacteria Bacillus sp.	7	1,1286	,41519	,22693	,7446	1,5126	40	1,50
	Testigo	5	,6000	,37417	,30733	,1354	1,0646	30	1,20
	Total	15	,8867	,46270	,11947	,6304	1,1429	30	1,50

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Altura_cm	3,272	2	42	,048
Diámetro_cm	3,236	2	36	,051
Brotes_unidad	2,737	2	34	,079
Raíz_cm	,315	2	12	,736

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Altura_cm	Entre grupos	,061	2	,030	,714	,495
	Dentro de grupos	1,789	42	,043		
	Total	1,850	44			
Diámetro_cm	Entre grupos	,009	2	,005	1,016	,372
	Dentro de grupos	,167	36	,005		
	Total	,176	38			
Brotes_unidad	Entre grupos	4,889	2	2,444	1,562	,224
	Dentro de grupos	53,219	34	1,565		
	Total	58,108	36			

Raíz_cm	Entre grupos	,843	2	,422	2,348	,138
	Dentro de grupos	2,154	12	,180		
	Total	2,997	14			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

HSD Tukey

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Altura_cm	T. bacteria Streptomyces sp.	T. bacteria Bacillus sp.	-,08482	,07553	,505	-,2683	,0987
		Testigo	-,01857	,07669	,968	-,2049	,1678
	T. bacteria Bacillus sp.	T. bacteria Streptomyces sp.	,08482	,07553	,505	-,0987	,2683
		Testigo	,06625	,07417	,648	-,1140	,2465
	Testigo	T. bacteria Streptomyces sp.	,01857	,07669	,968	-,1678	,2049
		T. bacteria Bacillus sp.	-,06625	,07417	,648	-,2465	,1140

Diámetro_cm	T. bacteria Streptomyces sp.	T. bacteria Bacillus sp.	-,00256	,02722	,995	-,0691	,0640
		Testigo	-,03352	,02619	,416	-,0975	,0305
	T. bacteria Bacillus sp.	T. bacteria Streptomyces sp.	,00256	,02722	,995	-,0640	,0691
		Testigo	-,03095	,02675	,486	-,0963	,0344
	Testigo	T. bacteria Streptomyces sp.	,03352	,02619	,416	-,0305	,0975
		T. bacteria Bacillus sp.	,03095	,02675	,486	-,0344	,0963
d	Brotos_unida	T. bacteria Streptomyces sp.	,88750	,50434	,198	-,3483	2,1233
		Testigo	,47273	,54665	,666	-,8668	1,8123
	T. bacteria Bacillus sp.	T. bacteria Streptomyces sp.	-,88750	,50434	,198	-2,1233	,3483
		Testigo	-,41477	,49003	,677	-1,6156	,7860
	Testigo	T. bacteria Streptomyces sp.	-,47273	,54665	,666	-1,8123	,8668
		T. bacteria Bacillus sp.	,41477	,49003	,677	-,7860	1,6156
Raíz_cm	sp.	T. bacteria Streptomyces	-,32857	,29238	,518	-1,1086	,4515
		Testigo	,20000	,30943	,798	-,6255	1,0255
	T. bacteria Bacillus sp.	T. bacteria Streptomyces sp.	,32857	,29238	,518	-,4515	1,1086
		Testigo	,52857	,24809	,125	-,1333	1,1905
	Testigo	T. bacteria Streptomyces sp.	-,20000	,30943	,798	-1,0255	,6255
		T. bacteria Bacillus sp.	-,52857	,24809	,125	-1,1905	,1333

Subconjuntos homogéneos

Altura_cm

HSD Tukey^{a,b}

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
T. bacteria	14	,3214
Streptomyces sp.		
Testigo	15	,3400
T. bacteria Bacillus sp.	16	,4063
Sig.		,505

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 14,955.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Raíz_cm

HSD Tukey^{a,b}

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
Testigo	5	,6000
T. bacteria	3	,8000
Streptomyces sp.		
T. bacteria Bacillus sp.	7	1,1286
Sig.		,193

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,437.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Brotos_unidadHSD Tukey^{a,b}

Tratamiento	N	Subconjunto para
		alfa = 0.05
		1
T. bacteria Bacillus sp.	16	3,3125
Testigo	11	3,7273
T. bacteria Streptomyces sp.	10	4,2000
Sig.		,210

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 11,839.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Diámetro_cmHSD Tukey^{a,b}

Tratamiento	N	Subconjunto para
		alfa = 0.05
		1
T. bacteria Streptomyces sp.	13	,1308
T. bacteria Bacillus sp.	12	,1333
Testigo	14	,1643
Sig.		,430

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12,949.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.