



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

CARRERA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

**Estimulación y crecimiento de raíces de *Bougainvillea* sp.
a través de la inoculación de bacterias promotoras de
crecimiento vegetal**

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

Autor: Cuenca Alulima, Dolores Yadira

Director: Vivanco Galván, Oscar Amable

LOJA

2022



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>

2022

Aprobación del director del Trabajo de Titulación

Loja, 01 de octubre del 2022

Claudia Teresa Cruz Erazo

Coordinador(a) de Titulación de Bioquímica y Farmacéutico

Ciudad.-

De mi consideración:

Me permito comunicar que, en calidad de director del presente Trabajo de Titulación denominado: Estimulación y crecimiento de raíces de *Bougainvillea* sp. a través de la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal realizado por Dolores Yadira Cuenca Alulima ha sido orientado y revisado durante su ejecución, así mismo ha sido verificado a través de la herramienta de similitud académica institucional, y cuenta con un porcentaje de coincidencia aceptable. En virtud de ello, y por considerar que el mismo cumple con todos los parámetros establecidos por la Universidad, doy mi aprobación a fin de continuar con el proceso académico correspondiente.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Firma del Director del Trabajo de Titulación

Oscar Amable Vivanco.

C.I.: 110416656

Correo electrónico: oavivanco@utpl.edu.ec

Declaración de autoría y cesión de derechos

“Yo, Dolores Yadira Cuenca Alulima, declaro y acepto en forma expresa lo siguiente:

Ser autor(a) del Trabajo de Titulación denominado: Estimulación y crecimiento de raíces de *Bougainvillea sp.* a través de la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal, de la Titulación de Bioquímica y Farmacia , específicamente de los contenidos comprendidos en: Introducción, Capítulo 1. Marco teórico de la especie de *Bougainvillea sp.* y las bacterias PGPR, Capítulo 2. Objetivos para evaluar el desarrollo fenológico de las plántulas, Capítulo 3. Materiales y métodos en cuanto a la reactivación y encapsulación de bacterias PGPR, Capítulo 4. Resultados y discusión de las variables evaluadas, Conclusiones y Recomendaciones, siendo Oscar Amable Vivanco, director (a) del presente trabajo; también declaro que la presente investigación no vulnera derechos de terceros ni utiliza fraudulentamente obras preexistentes. Además, ratifico que las ideas, criterios, opiniones, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo son de mi exclusiva responsabilidad. 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 de este trabajo.

Que la presente 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”, en tal virtud cedo a favor de la Universidad Técnica Particular de Loja la titularidad de los derechos patrimoniales que me corresponde en calidad de autor/a, de forma incondicional, completa exclusiva y por todo el tiempo de vigencia.

La Universidad Técnica Particular de Loja queda facultada para ingresar el presente trabajo 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: Dolores Yadira Cuenca Alulima.

C.I.: 1104986201

Correo electrónico: dycuenca2@utpl.edu.ec

Dedicatoria

Este trabajo esta dedicado principalmente a Dios que ha sido mi guía durante este largo camino que recorrí, a mi madre Sra. María Piedad Alulima que a sido mi motor, mi apoyo en todo momento, a mi padre que esta en el cielo Sr. Vicente Cuenca que desde ese lugar me guía por el camino del bien y estoy segura que desde ahí celebrará un logro mas en mi vida profesional.

También quiero dedicar a mis hermanos y familiares que de alguna forma estuvieron presentes apoyándome en este camino, a mis amigos y amigas que conocí durante esta vida universitaria ya que de algún modo formaron parte de mi vida en estos cinco años.

Agradecimiento

Primeramente, quiero agradecer a Dios el cual ha sido mi guía durante este tiempo de vida universitaria ya que con su ejemplo de vida me ha ayudado a seguir adelante ante los obstáculos. Así mismo quiero agradecer a mi madre que siempre me brindaba palabras de aliento y apoyo durante todo este camino recorrido, a mi padre que esta en el cielo que ha sido mi mayor fuerza para seguir adelante, a mis hermanos que con su enseñanzas y ejemplo me han dado la fuerza suficiente para terminar una meta más en mi largo camino por recorrer y a mis amigas que durante este largo tiempo fueron como mis hermanas las cuales las llevaré en mi corazón por todos los momentos compartidos tanto académicos como en la vida personal.

A mi director de tesis Mgtr. Oscar Vivanco por confiar en mí y brindarme las enseñanzas necesarias para terminar este trabajo, así como al Mgtr. Hernán Lucero por haberme abierto las puertas de su laboratorio donde adquirí los conocimientos necesarios para realizar mi trabajo.

Índice de contenido

Carátula.....	I
Aprobación del director del Trabajo de Titulación	II
Declaración de autoría y cesión de derechos.....	IV
Dedicatoria.....	VI
Agradecimiento.....	VII
Índice de contenido	VIII
Resumen	1
Abstract.....	2
Introducción	3
Capítulo 1.....	5
Marco teorico	5
1.1. Especie de <i>Bougainvillea sp.</i>	5
1.1.1. Usos.....	5
1.1.2. Propagación.....	5
1.1.3. Distribución y ecología	6
1.2. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal	6
1.2.1. <i>Bacillus sp.</i>	8
1.1.2.1 Principales características.....	8
1.2.2 <i>Streptomyces sp.</i>	8
1.2.2.1 Principales características.....	9
1.3 Efectos entre el uso de fertilizantes y microorganismos	10
1.3.1 Encapsulación: Inoculante del alginato.....	10
Capítulo dos	11
Objetivos.....	11
2.1 Objetivo general del proyecto.....	11

2.1.1	Objetivos Específicos del Proyecto.....	11
	Capítulo tres	12
	Materiales y métodos	12
3.1	Fase experimental (Laboratorio).....	12
3.1.1	<i>Obtención y reactivación de bacterias</i>	12
3.1.2	<i>Incremento de la biomasa</i>	12
3.1.3	<i>Encapsulación de Bacterias</i>	12
3.1.4	<i>Evaluación de UFC después de la encapsulación</i>	13
3.1.5	<i>Deshidratación de cápsulas de alginato a 4°C</i>	13
3.1.6	<i>Confirmación de viabilidad de las bacterias encapsuladas en alginato por 6 meses a 4°C</i>	13
3.2	Fase Experimental en Vivero.....	14
3.2.1	<i>Obtención y enraizamiento de los esquejes de Bougainvillea sp</i>	14
3.2.2	<i>Inoculación de la Bacterias</i>	14
3.2.3	<i>Verificación de crecimiento vegetal</i>	155
3.2.4	<i>Análisis Estadístico</i>	15
	Capítulo cuatro.....	16
	Resultados y discusión.....	16
4.1	Fase de laboratorio	16
4.1.1	Reactivación y crecimiento de bacterias en medio TSA y TSB	16
4.1.2	<i>Incremento de la biomasa</i>	17
4.1.3	<i>Eficiencia del encapsulado de Bacillus sp. y Streptomyces sp</i>	19
4.1.4	<i>Cápsulas hidratadas</i>	21
4.1.5	<i>Deshidratación de las cápsulas</i>	21
4.2	Fase de vivero	22
4.2.1	<i>Altura de la planta</i>	23
4.2.2	<i>Diámetro de tallo</i>	24
4.2.3	<i>Número de brotes</i>	24

4.2.4 Longitud de la raíz	25
4.3 Efecto de los encapsulados de <i>Bacillus sp.</i> y <i>Streptomyces sp.</i> en el desarrollo fenológico de <i>Bougainvillea sp.</i>	27
Conclusiones.....	29
Recomendaciones	30
Referencias.....	31
Apéndice	¡Error! Marcador no definido.

Índice de tablas

Tabla 1 Descripción de los tratamientos de ensayo	16
Tabla 2 Viabilidad de las bacterias	20

Índice de figuras

Figura 1 Colonias de <i>Bacillus sp.</i>	16
Figura 2 Colonias de <i>Streptomyces sp.</i>	17
Figura 3 Cepa bacteriana E4-8 (<i>Bacillus sp.</i>).....	18
Figura 4 Cepa bacteriana E4-13 (<i>Streptomyces sp.</i>)	19
Figura 5 Cápsulas hidratadas	20
Figura 6 Cápsulas deshidratadas	22
Figura 7 Altura de plántulas de <i>Bougainvillea sp.</i>	23
Figura 8 Diámetro de plántulas de <i>Bougainvillea sp.</i>	24
Figura 9 Número de brotes de plántulas de <i>Bougainvillea sp.</i>	25
Figura 10 Longitud de raíz de plántulas de <i>Bougainvillea sp.</i>	26
Figura 11 Plántula + Bacteria <i>Streptomyces sp.</i> , Plántula + Bacteria <i>Bacillus sp.</i> , Plántulas testigo	27

Resumen

La inoculación de plantas con microorganismos benéficos es de gran interés porque éstos estimulan el crecimiento y desarrollo fisiológico de las plantas. Por ello en este proyecto se evaluó la inoculación de *Bacillus sp.* y *Streptomyces sp.* y su reactivación en dos medios agar TSA y caldo TSB, para luego encapsularlas y aplicarlas a la especie *Bougainvillea sp.* y de esta manera determinar el impacto en su desarrollo.

Se evaluó la altura, grosor del tallo, longitud de la parte aérea y de la raíz, el ensayo se mantuvo por 90 días. Sin embargo, cuando los tratamientos fueron inoculados con la bacteria *Bacillus sp.*, se observó una diferencias estadística significativa en cuanto al parámetro de la longitud de la raíz entre el tratamiento con *Streptomyces sp.* y el testigo. Por otra parte *Streptomyces sp.* no genera ninguna diferencia estadística significativa en cuanto a los parámetros mencionados anteriormente. Observacionalmente *Bacillus sp.*, presentó mayor altura y enraizamiento en comparación con el tratamiento *Streptomyces* y el testigo, en los que se destaca que la bacteria *Bacillus sp.* puede considerarse beneficioso para el desarrollo de *Bougainvillea sp.*

Palabras clave: bacterias PGPR, microencapsulación, *Bacillus sp.* y *Streptomyces sp.*, *Bougainvillea sp.*

Abstract

The inoculation of plants with beneficial microorganisms is of great interest because they stimulate the growth and physiological development of plants. Therefore, in this project the inoculation of *Bacillus sp.* And *Streptomyces sp.* And its reactivation in two TSA agar media and TSB broth, and then encapsulate them and apply them to the species *Bougainvillea sp.* and in this way determine the impact on its development.

The height, thickness of the stem, length of the aerial part and the root were evaluated, the trial was maintained for 90 days. However, when the treatments were inoculated with the bacterium *Bacillus sp.*, a statistically significant difference was observed as for the parameter of root length between treatment with *Streptomyces sp.* and the control. Observationally *Bacillus sp.*, presented greater height and rooting compared to the *Streptomyces sp.* treatment and the control, in which it is highlighted that the bacterium *Bacillus sp.* can be considered beneficial for the development of *Bougainvillea sp.*

Keywords: PGPR bacteria, microencapsulation, *Bacillus sp.* and *Streptomyces sp.* ,
Bougainvillea sp.

Introducción

Bougainvillea sp. es una planta trepadora de la familia de las Nyctaginaceae. Se considera ornamental por sus hermosas flores que florecen varias veces al año. Se cree que se originó en América del Sur, pero se cultiva ampliamente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. *Bougainvillea*, debido a sus características específicas, como; alta variación en el tipo de follaje, la producción de muchas inflorescencias florales y la floración continua con ciclo de producción corto es muy adecuado para la industria ornamental (Duhoky, 2014).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR) son un tipo de bacterias que se encuentran en la rizósfera de las plantas y que desempeñan un papel importante en la prevención y control de enfermedades transmitidas por el suelo. Además, promueven el crecimiento de las plantas, el aumento del rendimiento y mejora el medio ambiente del suelo (Wang et al., 2018). La biotecnología abre nuevas oportunidades para el uso de microorganismos benéficos para la promover el crecimiento de las plantas y el control biológico de patógenos. La tecnología permite el aprovechamiento de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) para los cultivos, que se está volviendo cada vez más popular en todo el mundo a medida que aumenta la demanda de alimentos y a la búsqueda de alternativas más sostenibles sin la necesidad de dañar el medio ambiente (Gutierrez et al., 2003).

Además los microorganismos asociados a ellos se benefician de esta interacción ya que las plantas liberan varios compuestos orgánicos en la rizósfera, que son utilizados como nutrientes por la comunidad microbiana (Cantero, 2018).

La aplicación de PGPR a semillas o plántulas es un mecanismo eficaz para promover el crecimiento de las plantas. La aplicación apropiada de este inóculo permite la colonización de las raíces de la plántulas y las protegerá de plagas y enfermedades (Morocho & Leiva, 2019).

Dado el creciente interés por reducir el uso de agroquímicos y paralelamente promover una agricultura orgánica, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal son una

alternativa al uso de fertilizantes artificiales y agroquímicos (Benjumeda, 2017). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue examinar el papel de dos bacterias promotoras del crecimiento vegetal (*Bacillus sp.* y *Streptomyces sp.*) sobre la formación y el crecimiento de raíces de *Bougainvillea sp.* la cual presenta problemas de prendimiento y desarrollo. Estacas de esta especie fueron inoculadas en cepas bacterianas encapsuladas anteriormente mencionadas, estuvieron bajo las condiciones de vivero (Instalaciones del Vivero Municipal Orillas de Zamora de la Ciudad de Loja), con el fin de evaluar su efecto sobre el desarrollo fenológico de *Bougainvillea sp.*

Capítulo uno

Marco Teorico

1.1. *Bougainvillea sp.*

El género *Bougainvillea sp.* pertenece a la familia Nyctaginaceae, el cual incluye 18 especies aceptadas de 35 descritas. Es nativo de Sudamérica y ampliamente cultivado en regiones tropicales y subtropicales. Las especies del género *Bougainvillea sp.* son plantas trepadoras de ramas leñosas con espinas. Lo que a primera vista parece la flor son hojas modificadas llamadas brácteas que envuelven la verdadera flor de color amarillo blancuzco (Pereira-Guanuche et al., 2017). La raíz de *Bougainvillea sp.*, como no necesita soportar su propio peso, no tiene un sistema de raíces fuerte, tienden a ser largas y quebradizas y se rompen fácilmente si el suelo en el que crecen se altera de alguna manera (Espíndola, 2021).

Llegan a alcanzar entre 3 y 4 metros de altura y su longitud puede llegar a cubrir hasta los 8 metros cuando estén plantadas en tierra y en el exterior en un clima cálido. Las plantas sembradas en maceta no llegan a pasar del metro y medio (Jordá, 2010).

1.1.1. Usos

A más de ornamental tiene usos medicinales. Medicinalmente se utilizan las brácteas y las flores para infusiones las cuales tratan problemas como tos, bronquitis, diarrea, disentería e incluso tienen potencial antidiabético (Espinoza & Espinoza, 2008). Es importante mencionar también que los extractos acuosos, etanólicos y acetónicos de las hojas cuentan con una actividad antiulcerosa y antimicrobiana (Salazar, 2016).

1.1.2. Propagación

Tiene una propagación vegetativa o asexual, que consiste en la formación de una planta nueva intacta a partir de la raíz, tallos u hojas. El método convencional por estacas tiene muchas ventajas como son: la conservación de genotipos y ciclo de producción corto, sin embargo, el principal inconveniente de buganvilla son los problemas fitosanitarios causadas por hongos que son diseminados por las estacas al ser propagadas (Salazar, 2016).

Dentro de la misma se hablará de su reproducción mediante semillas o sexual que consiste en que la planta en otoño suele formar unas vainas en las flores que al ser cosechadas y secadas se consigue las semillas que ahí en su interior, hasta obtener una nueva planta, en este caso para poder mejorar la reproducción de *Bougainvillea sp.*, entre los factores que ayudan a mejor el enraizamiento de la misma está la composición de la mezcla del suelo, óptimas condiciones de humedad y un sustrato suficientemente denso para mantener el esqueje firme durante el enraizamiento (Sarmiento, 2015).

1.1.3. Distribución y ecología

Es una especie que habita en las laderas y colinas de bosques secos, crece entre 0 -1.500 msnm, en las provincias de Loja y El Oro. Nuestra provincia cuenta con una gran diversidad de especies vegetales entre ellas *Bougainvillea peruviana*, *Bougainvillea spectabilis*, *Bougainvillea glabra*, varias de estas especies se encuentran en los viveros de nuestra ciudad (Aguirre, 2012).

Debido a su bajo nivel de enraizamiento se ha creído conveniente evaluar formas alternativas para la eficiencia de multiplicación en vivero, entre ellas podemos mencionar su reproducción de manera asexual que no es tan eficiente por si sola. Está consiste en el desarrollo de nuevas plantas a partir de unos fragmentos de órganos de raíces, tallos, hojas, flores y yemas, retiradas de la planta madre, capaces de desarrollar raíces y el vástago de la nueva planta (Espinoza & Espinoza, 2008).

1.2. Bacterias promotoras de crecimiento vegetal

Kloepper (1978) cataloga a las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal por sus siglas en ingles PGPR como “bacterias de vida libre capaces de aumentar el crecimiento de las plantas e incrementar sus defensas frente a otros microorganismos que causan enfermedades encontradas en la rizósfera”

Los mecanismos de acción de los PGPR en el crecimiento de las plantas son variados y se pueden clasificar, de manera general, en extracelulares (ePGPR) que ocurren en el exterior de la rizósfera, o intracelulares (iPGPR). Según su acción se dividen principalmente en dos tipos: Directos e indirectos. La diferencia principal es que los

mecanismos indirectos ocurren fuera de la planta, mientras que los directos ocurren dentro de ella (Benjumeda, 2017).

Podemos mencionar que las PGPR hacen relación tanto a la estimulación del crecimiento como a la actividad biocontroladora, haciendo alusión a la producción de fitohormonas, solubilización de nutrientes e inhibición de fitopatógenos, lo que deriva en efectos benéficos para el desarrollo de las plantas (Castaño et al., 2021). Estas pueden clasificarse como biofertilizantes cuando actúan como fuente de nutrición vegetal y fuente de enriquecimiento para reponer o reconstruir el ciclo de nutrientes entre el suelo, las raíces de las plantas y los microorganismos presentes (Reyes, 2019). También como controladores biológicos de los patógenos mediante efectos antagonistas o de Inducción de Resistencia Sistémica, de la misma manera incrementando de la biodisponibilidad de elementos minerales como por ejemplo la solubilización de fosfatos, fijación de nitrógeno y la fitoestimulación al propiciar el enraizamiento (Correa, 2008).

Las diferentes poblaciones bacterianas presentes en la rizósfera, se llaman rizobacterias o bacterias promotoras de crecimiento vegetal - PGPR y poseen la capacidad de colonizar el sistema radicular de las plantas o su entorno más cercano; clasificándose en tres grupos principales, las que pueden colonizar el tejido de la planta formando nódulos (simbióticas), las que se hospedan en estructuras internas de la planta (endofíticas) y las que se encuentran cerca del sistema radicular de la planta. Inoculaciones de PGPR en cultivos de interés agronómico han demostrado el aumento del nitrógeno, fósforo y los niveles de algunos minerales menores que se hacen disponibles para la planta (Criollo et al., 2012).

Entre los géneros de bacteria más usados dentro del grupo de PGPR están *Bacillus sp.* y *Streptomyces sp.*; se las conoce como bacterias de vida libre o asociativas que fijan N₂, son organismos altamente eficientes que mejoran el crecimiento de la planta y aumentan su tolerancia a otros microorganismos causantes de enfermedades (Reyes, 2019).

1.2.1. *Bacillus sp.*

El género *Bacillus* fue reportado por primera vez por Cohn (1872), quien lo describió como bacteria productora de endosporas resistentes al calor. El género *Bacillus sp.* comprende una gran diversidad de formas de bastón, gram positivo, oxidasa y catalasa positiva. Son bacterias móviles y aeróbios estrictos en su mayoría. En medios líquidos, crecen formando un sedimento en la superficie, este género pueden producir endosporas que son resistentes a altas temperaturas y factores físicos nocivos como el secado, la radiación, los ácidos y los desinfectantes químicos (Bravo, 2009).

Al género *Bacillus sp.* se le atribuye el muchos estudios que están enfocados principalmente en su capacidad para actuar como bacterias bioprotectoras y promotoras del crecimiento vegetal (Soto, 2013).

1.2.1.1 Principales características. Las células bacterianas de este género tienen un amplio rango de tamaños que varían desde 0,5 a 2,5 μm x 1,2-10 μm . Este género se encuentra comúnmente en suelos y plantas donde tienen un papel importante el ciclo del carbono y el nitrógeno (Cuervo, 2010).

Las especies del género *Bacillus sp.* comprenden una morfología bacilar, movilidad flagelar, y tamaño variable, su crecimiento óptimo ocurre a pH neutro, cuenta con una gran diversidad metabólica (Villarreal et al., 2018). En cuanto a su rol podemos mencionar: la síntesis de sustancias reguladoras de crecimiento (fitohormonas), como auxinas, citocininas, giberelinas, las cuales estimulan la densidad y longitud de las raíces, lo que incrementa a su vez la capacidad de absorción de agua y nutrientes y permite que las plantas sean más vigorosas, productivas y tolerantes a condiciones climáticas adversas (Díaz, 2021).

1.2.2 *Streptomyces sp.*

Como una especie de actinomicetos grampositivos, las especies de *Streptomyces* son abundantes en el suelo, muchas de ellos son importantes para las PGPR y algunas se utilizan en la agricultura como agentes de control biológico (Chen et al., 2018). Recientemente se ha descubierto que el grupo de los Streptomicetos, que por mucho tiempo

se consideraron como habitantes del suelo de vida libre, tienen interacciones complejas con las plantas.

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 (Carreño, 2014). Este género es conocido por su capacidad de producir metabolitos secundarios activos, siendo fuente de una serie de antiinflamatorios, compuestos inmunosupresores y en particular de más de la mitad de los antibióticos incluyendo aquellos farmacéuticamente importantes como la estreptomina (Lapaz, 2011).

1.2.2.1 Principales características. Son microorganismos aerobios con crecimiento ramificado y tienen micelio aéreo, producen una amplia variedad de pigmentos, además muchas de las cepas producen uno o más antimicrobianos (Ampuero, 2016). Este género se lo distingue por su olor a tierra húmeda que desprende de la producción de metabolitos volátiles conocido como geosmina, también producen varios compuestos bioactivos de importancia farmacéutica y agrícola (Soto, 2013).

Los suelos alcalinos y neutros resultan ser más favorables para el desarrollo de estas bacterias; el rango de pH óptimo para las actividades de estos microorganismos se encuentra entre 6.5 y 8.0, son microorganismos importantes en la mineralización del carbono y el nitrógeno (Castaño et al., 2021). El género *Streptomyces* ha sido descrito como colonizador de la rizosfera, capaz de ejercer biocontrol sobre hongos fitopatógenos, producir sideróforos, sustancias promotoras del crecimiento vegetal in vitro, promover la nodulación y ayudar a los bacteriodes de *Rhizobium* a la asimilación del hierro en la fijación de nitrógeno en leguminosas, plantas florales entre otras, lo cual contribuye indirectamente a la promoción de crecimiento vegetal (Correa, 2008).

1.3 Efectos entre el uso de fertilizantes y microorganismos

La producción agrícola actual con problemas en el consumo de agua, fertilizantes y pesticidas, requiere de estrategias en donde éstos insumos se reduzcan, para asegurar el rendimiento vegetal a un costo relativamente bajo, sin deterioro de la fertilidad del suelo. Un enfoque alternativo es considerar el uso de microorganismos de la rizosfera encapsulados que asociados con las raíces de las plantas: dosis más bajas de nitrógeno, fósforo u otros fertilizantes para mejorar, estimular y promover el desarrollo saludable de las plantas para obtener un rendimiento rentable (Espinosa et al., 2017)

1.3.1 Encapsulación: Inoculante del alginato

La microencapsulación es una tecnología de empaquetamiento de sustancias químicas y materiales biológicos. La encapsulación de microorganismos permite el aislamiento físico y proporciona protección contra factores de medio ambiente o físico-químicos del suelo, permitiendo la liberación gradual del agente encapsulado. Las microcápsulas ofrecen la posibilidad de recuperar el agente ya que constituye un micro-entorno interno adecuado para las bacterias (Hernández et al., 2018).

El alginato es un hidrocoloide que posee tanto estas características como propiedades gelificantes, estabilizantes y espesantes, razones por las cuales ha sido de gran interés para la industria alimentaria, farmacéutica y agrícola (Pasin et al., 2012). También podemos decir que es un polímero natural compuesto de ácido D-manurónico y ácido L-glucurónico, y puede extraerse de diferentes macroalgas así como de varias bacterias. Las principales ventajas del alginato son su naturaleza no tóxica, su biodegradabilidad, su capacidad de liberar de manera lenta los agentes encapsulados y su bajo costo (Hernández et al., 2018).

Capítulo dos

Objetivos

2.1 Objetivo general del proyecto

- “Verificar el efecto de dos bacterias promotoras del crecimiento vegetal (*Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp.) en el enraizamiento y crecimiento de *Bougainvillea* sp.”.

2.1.1 Objetivos Especificos del Proyecto

- Evaluar la viabilidad de las bacterias encapsuladas.
- Estudiar el efecto de la bacterias encapsuladas en las características fenológicas de *Bougainvillea* sp.

Capítulo tres

Materiales y métodos

Este estudio fue desarrollado en dos etapas:

1. Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Técnica Particular de Loja en donde se realizó la reactivación, incremento de la biomasa y la encapsulación de la bacterias en alginato.
2. Vivero Municipal Orillas de Zamora de la Ciudad de Loja donde se realizó la inoculación de las bacterias *Bacillus sp.* y *Streptomyces sp.* en plántulas de *Bougainvillea sp.*, evaluó el enraizamiento y desarrollo de la misma.

3.1 Fase experimental (Laboratorio)

3.1.1 Obtención y reactivación de bacterias

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.

Las bacterias que previo al ensayo estuvieron almacenadas a -80°C fueron reactivadas en medio de cultivo Tripticasa Soya Agar (TSA) e incubadas a 30°C durante 48 a 72 horas.

3.1.2 Incremento de la biomasa

Luego de las 72 horas en medio TSA se obtuvieron colonias bacterianas, las cuales se inocularon en Caldo Tripticasa Soya (TSB), e incubar a 30°C por 48 horas donde se obtuvo el sedimento bacteriano.

3.1.3 Encapsulación de Bacterias

Se tomó un volumen de 50 ml de sedimento bacteriano después de 48 horas, respectivamente *Bacillus sp.* y *Streptomyces sp.* fue colocado en un tubo eppendorf y fue centrifugado a 10000 rpm. por 15 minutos, a 4°C . Este proceo permitió recuperarlas células bacterianas. A partir del pellet bacteriano de *Streptomyces sp.* se ajustó a 1×10^{10} UFC/mL, mientras que *Bacillus sp.* a 1×10^{11} UFC/mL. Los sedimentos bacterianos se resuspendieron en un tubo de 50 mL estéril que contenía alginato de sodio al 2% previamente esterilizado (15 min, 121°C , 1.5 atm) (Alvarez & Sánchez, 2016). Las bacterias fueron encapsuladas en

perlas de alginato, para ello, la solución que contenía cada una de las bacterias con el alginato fue colocado gota a gota sobre una solución de cloruro de calcio al 0.1 M estéril (15 min, 121 °C, 1.5 atm) manteniéndose en constante agitación por 30 minutos. Posteriormente las perlas fueron tamizadas (tamiz 1mm) para luego ser enjuagadas con agua desionizada estéril (15 min, 121 °C, 1.5 atm), y posteriormente almacenadas en placas petri estériles a 4°C hasta su uso (Alvarez & Sánchez, 2016).

La preparación de los tratamientos se realizó de la siguiente manera:

- Tratamiento 1: plántula + *Streptomyces sp.* encapsulada
- Tratamiento 2: plántula + *Bacillus sp.* encapsulada
- Tratamiento 3: plántula.

3.1.4 Evaluación de UFC después de la encapsulación

Para poder evaluar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) encapsuladas, se colocó una perla de alginato en ácido cítrico al 1% estéril (15 min, 121 °C, 1.5 atm) en un tubo eppendorf de 15ml, luego colocado en el shaker a 250 rpm por 30 minutos hasta su disolución. Finalmente se realizó las diluciones y luego la siembra por duplicado en medio TSA e incubadas por 24 horas a 30°C (Arana & Barcina, 2015).

3.1.5 Deshidratación de cápsulas de alginato a 4°C

Se colocaron las cápsulas de alginato en cajas Petri y se mantuvieron durante 6 meses en refrigeración a 4°C hasta su posterior uso, donde se las encontró en un estado de deshidratación. Este procedimiento fue el mismo para las dos bacterias *Streptomyces sp.* y *Bacillus sp.* respectivamente. Esto se realizó para guardar las cápsulas de alginato para su posterior aplicación en las plántulas del vivero y para poder verificar la viabilidad de las bacterias en las cápsulas de alginato.

3.1.6 Confirmación de viabilidad de las bacterias encapsuladas en alginato por 6 meses a 4°C

Para verificar la viabilidad de las bacterias se procedió a sembrar las cápsulas de alginato de cada cepa bacteriana en un medio alternativo (gelatina sin sabor suplementado con 1 gramo de azúcar por litro), e incubadas a temperatura ambiente por 24 -48 horas.

3.2 Fase Experimental en Vivero

3.2.1 Obtención y enraizamiento de los esquejes de *Bougainvillea sp*

Las plántulas de *Bougainvillea sp.* fueron proporcionadas por el Vivero Municipal Orillas de Zamora de la Ciudad de Loja, cada uno de las plántulas fueron cortados a nivel de la base del tallo principal y el tamaño de las plántulas fue de 18 a 20 cm. Para sembrar las plántulas, se realizó un corte lateral en bisel en la base de la plántula, el sustrato (tierra esterilizada, arena, tamo de arroz y humus, con una relación 3:1:1:1) fue esterilizado previamente. Las plántulas fueron sembrados juntos en una maceta en un espacio entre 5 a 7 cm de cada plántula y finalmente fueron cubiertas con una malla (Zaran) para mantener el sustrato húmedo y evitar la intensidad de la luz solar.

Cabe recalcar que está fase tubo algunos inconvenientes ya que fue realizado en pandemia y no contaba con el acceso diario al vivero; entre los inconvenientes fueron los siguientes la luz directa que ingresaba a la plántula, el tipo de suelo y el riego que al no poder ingresar libremente no pude controlarlo.

3.2.2 Inoculación de la Bacterias

Este ensayo se realizó con 15 plántulas para cada tratamiento, considerando cada plántula como una unidad experimental o repetición. En cada uno de las plántula se inoculó 4 cápsulas de alginato de sodio deshidratado que contenía a las bacterias en estudio como son *Streptomyces sp.*, *Bacillus sp.* (tabla 1).

Tabla 1

Descripción de los tratamientos del ensayo

Tratamiento	Descripción	Número de Plántulas	Cápsulas de Alginato por Plántula
Tratamiento 1	<i>Streptomyces sp.</i> + plántula	15	4
Tratamiento 2	<i>Bacillus sp.</i> + plántula	15	4
Control	Plántula (control)	15	0

3.2.3 Verificación de crecimiento vegetal

Para determinar el posible efecto de los tratamientos en el crecimiento y adaptación de las plántulas se evaluaron algunos parámetros cada 15 días durante 3 meses.

Los parámetros evaluados los detallo a continuación:

- **Altura de la plántula:** se realizó la medición desde la base del sustrato hasta el eje principal de la plántula cada 15 días en cada tratamiento.
- **Diámetro del tallo:** se midió de la misma manera que la anterior cada 15 días, tomando como referencia para cada medición la mitad de tallo.
- **Número de brotes:** esta variable se evaluó de acuerdo a la altura y diámetro de la plántula y se la realizó cada 20 días.
- **Longitud de la raíz:** esta variable fue evaluada a los 90 días a cada una de las plántulas las cuales fueron medidas con una regla en centímetros.

3.2.4 Análisis Estadístico

Para establecer si existían diferencias estadísticas significativas en los parámetros medidos (campo), se realizó pruebas de normalidad para luego proceder a realizar un análisis con pruebas paramétricas (ANOVA), a un nivel de significancia $p < 0,05$ y en el caso de mostrar diferencias se aplicó Pairwise Test y TukeyHSD.

Capítulo cuatro

Resultados y discusión

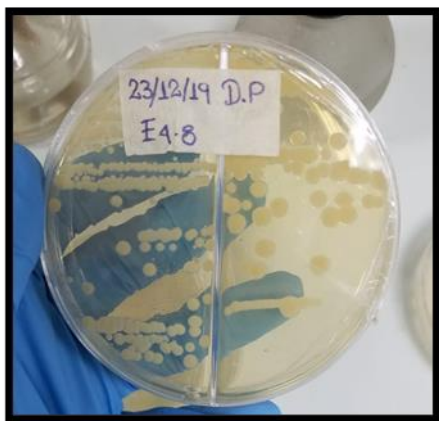
4.1 Fase de laboratorio

4.1.1 Reactivación y crecimiento de bacterias en medio TSA y TSB

La cepa bacteriana de *Bacillus* sp. creció en medio TSA en 48 horas. Dicha cepa corresponde a bacterias gram positivas, con morfología de bacilos, su crecimiento en caja petri: fueron colonias de color crema, de forma redonda como observamos a continuación en la figura 1.

Figura 1

Colonias de *Bacillus* sp. de color crema y con forma redonda o irregular



Los resultados obtenidos o verificados macroscópicamente concuerdan con la bibliografía de Luna, & Orellana, (2019), donde mencionan que las colonias *Bacillus* sp. se pueden observar redondeadas o irregulares, de superficie opaca, color crema o café, son colonias de 2 a 4 mm de diámetro, que pueden ser de aspecto liso, mucoso o rugoso; los bordes pueden ser ondulados o extendidos. En cuanto al género *Bacillus* sp. las condiciones óptimas de crecimiento se dan entre 26-30 °C de temperatura y pH neutro (Calvo & Zúñiga, 2010).

La reactivación de *Streptomyces* sp. se dió entre 48 a 120 horas. La diferencia observada con *Bacillus* sp. puede deberse a las diferentes tasas de crecimiento de cada cepa bacteriana. Estos son bacilos gram positivos de color crema y aspecto polvoroso de borde entero como se observa en la siguiente figura 2.

Figura 2

Colonias de *Streptomyces sp.* muestra colonias de color crema, de borde entero



La literatura menciona que las colonias de *Streptomyces sp.* muestran su crecimiento entre dos a diez días, cultivados a temperatura de 37°C o, aún mejor, a 30°C, con colonias que presentan aspecto ceroso, polvoso, de color blanco grisáceo (Duque, 2019).

Mediante estudios realizados por Martínez et al.,(2018) podemos asegurar que los resultados obtenidos en la etapa de laboratorio son consistentes con este estudio, y también podemos indicar que el género bacteriano pueden crecer en diferentes medios, como mencionamos a continuación *Streptomyces sp.* puede crecer en Agar Tripticasa Soja, Agar Ashby, Agar YGM y Murashige & Skoog dando colonias rugosas, cerosas, polvorosas bordes irregulares, colores blanco, gris y café claro (Duque, 2019).

4.1.2 Incremento de la biomasa

Una vez reactivadas las bacterias, se estableció el incremento de la biomasa bacteriana en Caldo Tripticasa Soja (TSB), mostrando un crecimiento con presencia de turbidez después de 24 a 48 horas, ajustando a *Bacillus sp.*, a 1×10^{11} UFC/MI como muestra la figura 3.

Figura 3

Cepa bacteriana E4-8 (*Bacillus sp.*)



En esta fase del estudio se comprobó la viabilidad y se descartó contaminación en la cepa *Bacillus sp.*, para asegurar la viabilidad, se utilizó medio TSB para obtener abundante crecimiento bacteriano, así como colonias que presentaban características de género a nivel microscópico se observaron bacilos grampositivos (Corrales et al.,2014). Además estudios realizados por Luna, & Orellana, (2019) nos dice que *Bacillus sp.* son Gram positivos de aproximadamente 0,8 mm de diámetro por 2 a 3 mm de largo, menores o iguales a 1 μ m de espesor, con bordes redondeados. Presentan esporas esféricas y centrales o paracentrales que no deforman el soma bacteriano. Además estudios realizados por Badía et al., (2011) como bacteria PGPR en arroz su determinación cuantitativa de la producción de *Bacillus sp.* se utilizó el medio líquido Caldo Triptona Soya ajustando la concentración celular al 108 células.mL⁻¹, según la escala McFarland y se incubaron durante 24 horas, a una temperatura de 30°C lo cual logro un resultado favorable al desarrollo de la planta.

El aumento de la biomasa del inóculo bacteriano, se lo observó a las 48 horas como muestra la figura 4, dando una alta concentración de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) en la cual se realizó las disoluciones pertinentes quedando ajustada la cepa en este caso *Streptomyces sp.* 1x10¹⁰ UFC/mL.

Figura 4

Cepa bacteriana E4-13 (Streptomyces sp.)



La fase de producción fue comprobada mediante la observación directa de los microorganismos en el microscopio, por la técnica de Tinción Gram por los cual *Streptomyces sp.*, se observo de color violeta indicativo de ser Gram positivo de forma bacilar de diferentes tamaños. En cuanto al género *Streptomyces sp.* la bibliografía confirma que son bacilos ramificados con tinción Gram positivo (Lemus, 2019). Otro estudios realizados muestran que estas bacterias crecieron también en caldo tripticasa de soja al 50 % e incubados a 28 °C y durante 48 h, la concentración se ajustó a 1×10^7 UFC/ml al igual que nuestro trabajo lo cual dio un resultado favorable en el desarrollo de plántulas de *Eucalyptus* (Angulo, 2014).

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

Para valorar la viabilidad del microorganismo se disolvió las cápsulas de alginato en ácido cítrico al 1%. Se determinó la biomasa luego de la encapsulación de *Bacillus sp.* determinando una concentración final de 1×10^8 UFC/mL. De igual manera se realizó con la especie *Streptomyces sp.*, presentó una concentración de 1×10^8 UFC/mL, de tal manera podemos decir que las cápsulas elaboradas y evaluadas en este estudio, muestran una viabilidad adecuada en las cepas de *Bacillus sp.* y *Streptomyces sp.* haciendo posible el uso de las mismas en la fase de campo como muestra la figura 5.

Las cápsulas de alginato se formó con una mezcla de alginato al 2% y cloruro de calcio al 0.1 M., lo cual resultó dar las condiciones ideales para las cápsulas la cual conserva

su forma y tiene una fácil manipulación (figura 5), el resultado observado de las cápsulas son de forma redonda, con tamaños promedios 7 mm.

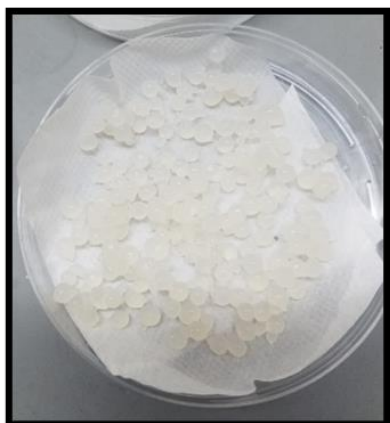
La concentración de alginato juega un papel importante en la formación de las cápsulas porque a bajas concentraciones no se consolidan y quedan adheridas al papel filtro como una película delgada. Por lo tanto, la concentración al 2% formó partículas que todavía estaban presentes cuando se secaron y fueron fáciles de manipular. Nuevamente, la concentración de cloruro de calcio no es crítica en el proceso, a 1M y 15 minutos es suficiente, mientras que a 0.1M las microcápsulas necesitan permanecer en solución por más tiempo, como en este caso (30 minutos). Para la formación de microcápsulas, el pH aparentemente no tiene efecto, ya que a pesar de ello, las partículas no pierden sus propiedades ni su forma.

Tabla 2

BACTERIAS PGPR	UFC/ML (ANTES DE ENCAPSULAR)	UFC /ML (ENCAPSULADAS)
Bacteria <i>Bacillus</i> sp.	7.3 x 10 ¹¹ UFC/mL	5,0 x 10 ⁸ UFC/mL
Bacteria <i>Streptomyces</i> sp.	5,4 x 10 ¹⁰ UFC/mL	3,3 x 10 ⁸ UFC/mL

Figura 5

Cápsulas hidratadas (Cápsulas de alginat + bacterias PGPR)



4.1.4 Cápsulas hidratadas

Estudios en la actualidad, reportan sobre la encapsulación como uno de los métodos más utilizados para la conservación de microorganismos (Castañeta et al., 2011). También mencionan que las concentraciones bacterianas cumplen con los rangos establecidos, con la finalidad de tener un mayor efecto funcional de las bacterias en la planta, por lo que nos menciona que debe tener una concentración hasta 10^8 UFC/MI (Corral et al., 2012).

Herrera (2016), menciona que la liberación de las bacterias encapsuladas que migran hacia el suelo, permite su competencia contra la microflora nativa. Los requerimientos recomendados para encapsular microorganismos son: obtener una alta calidad del producto final, estabilidad durante su almacenamiento y sobrevivencia de los organismos en el encapsulado.

Estudios realizados por Parra (2010), han mostrado que cultivos inmovilizados de alginato de calcio son los mejores protectores, esto ha sido evidente al incrementarse la sobrevivencia de bacterias bajo diferentes condiciones de ensayo que cuando las bacterias fueron probadas en el estado no encapsulado. Las principales ventajas del alginato en el proceso de encapsulación es su naturaleza no tóxica, su biodegradabilidad, su capacidad de liberar de manera lenta los agentes encapsulados y su bajo costo (Hernández et al., 2018). Por otra parte Pedraza et al., (2019), mencionan a la bacteria *Bacillus sp.* y *Streptomyces sp.*, diciendo que no forman esporas resistentes, por lo que son más propensas a la deshidratación. Por ello, la combinación de concentración de los componentes alginato de sodio y cloruro de calcio es muy eficaz y no presenta mayores requerimientos, ya que una de las principales características es la sencillez e inocuidad del proceso, que no se ve afectado por factores ambientales.

4.1.5 Deshidratación de las cápsulas

En este estudio cabe mencionar que las microcápsulas fueron colocadas en refrigeración a 4°C por 4 meses, por ello al momento de ser inoculadas en el vivero se presentaron deshidratadas y de color café (figura 3. B), esto se debe a factores como temperatura y tiempo de almacenamiento.

Por otro lado, es importante mencionar que las cápsulas deshidratadas se colocaron en gelatina sin sabor más azúcar, se observó que presentaban un buen crecimiento e hidratación dentro de las 24 horas, lo que confirmó que las bacterias aún estaban vivas en las cápsulas, ya que este es un método de conservación de cepas bacterianas como se muestra en la figura 6.

Figura 6

Cápsulas deshidratadas (Microcápsula de alginato + bacterias PGPR)



Fang et al., (2011), indican que la presencia de gelatina mejoró la capacidad de hinchamiento de las perlas de gel de alginato ya que existe una fuerte afinidad entre el alginato y la gelatina a través de la atracción electrostática que puede dificultar las agregaciones entre diferentes cadenas de alginato.

4.2 Fase de vivero

La colonización de la rizósfera y el rizoplasma por rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) es esencial para la respuesta de crecimiento de la planta. Sin embargo, la humedad del suelo, el tipo de suelo, las especies vegetales, el cultivo, los exudados de las raíces y la viabilidad bacteriana pueden influir en la colonización de la rizósfera y el rizoplasma (Camacho & La Torre, 2015).

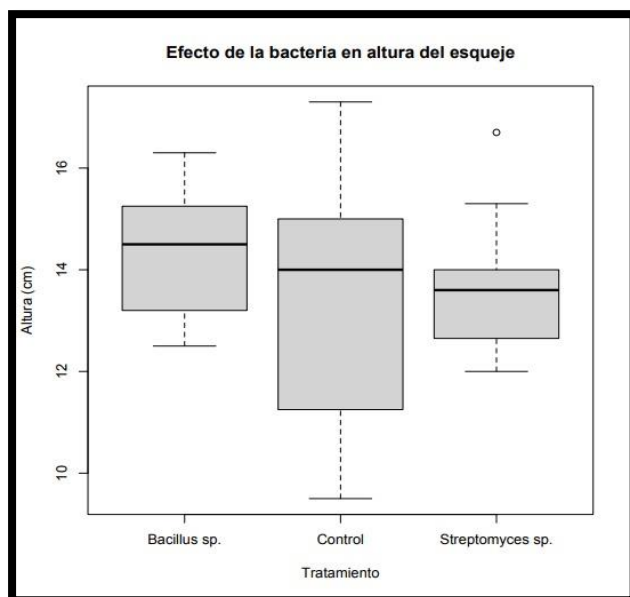
Los parámetros para analizar las plántulas de *Bougainvillea sp.* son:

4.2.1 Altura de la planta

La figura 7, muestra la ganancia de altura a los 90 días:

Figura 7

Altura de las plántulas de Bougainvillea sp., tratada con dos bacterias promotoras de crecimiento a Streptomyces sp. , Bacillus sp. frente al control.



Nota: La gráfica muestra el promedio de las repeticiones de cada tratamiento, la línea en negra indica la media de los tratamientos con sus respectivos límites superiores e inferiores.

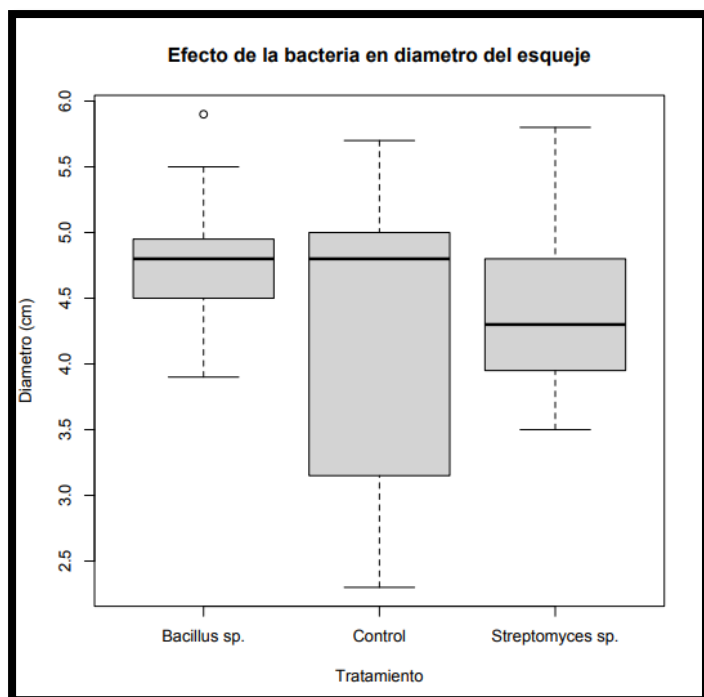
Según el ANOVA no existen diferencias significativas en cuanto a la altura de la plántula en comparación con los diferentes tratamientos. Es decir, a pesar de la aplicación de *Streptomyces sp.* y *Bacillus sp.* no se observa diferencia con el control, tomando en cuenta los inconvenientes anteriormente mencionados, Bibliografía menciona que estudios realizados en cultivos de maíz con bacterias PGPR específicamente *Streptomyces sp.* y *Bacillus sp.*, muestra un alto nivel de ganancia en altura de la planta, número de hojas y enraizamiento (Rojas et al., 2020).

4.2.2 Diámetro de tallo

La figura 8, indica los resultados obtenidos en el diámetro del tallo:

Figura 8

Diámetro de plántulas de *Bougainvillea sp.*, tratada con dos bacterias promotoras de crecimiento a *Streptomyces sp.* y *Bacillus sp.* frente al control



Nota: La gráfica muestran el promedio de las repeticiones de cada tratamiento, la línea en negrita indica la media de los tratamientos con sus respectivos límites superiores e inferiores.

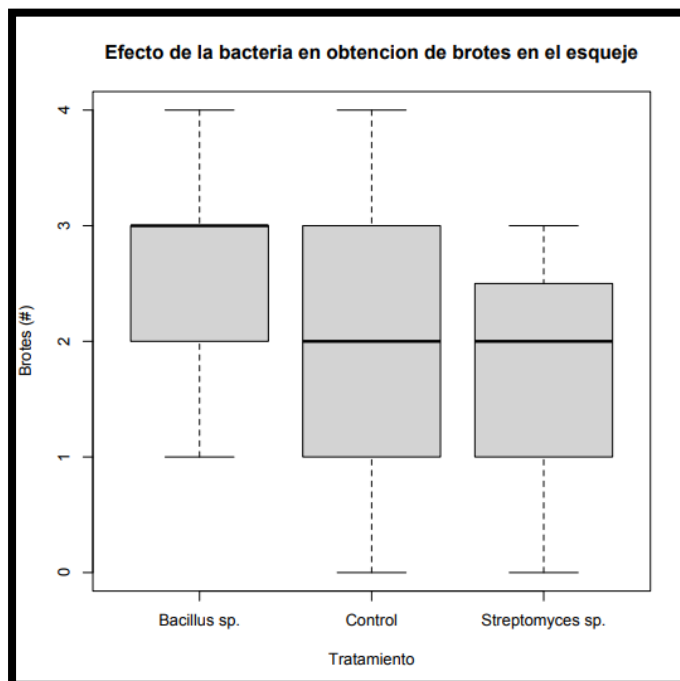
En este caso el ANOVA muestra que no existen diferencias significativas en el diámetro del tallo de los diferentes tratamientos. Es decir, a pesar de la aplicación de *Streptomyces sp.* y *Bacillus sp.* no se observa diferencia con el control. Estudios realizados por Carreño (2014), menciona que las rizobacterias *Bacillus* y *Streptomyces* influenciaron positivamente el desarrollo vegetativo de maíz, en condiciones de campo, incrementando la altura, número de hojas y diámetro de tallos.

4.2.3 Número de brotes

La Figura 9, indica los resultados obtenidos en el número de brotes:

Figura 9

Número de brotes de las plántulas de *Bougainvillea sp.*, tratada con dos bacterias promotoras de crecimiento a *Streptomyces sp.* y *Bacillus sp.* frente al control



Nota: Las graficas muestran el promedio de las repeticiones de cada tratamiento, la línea en negrita indica la media de cada uno de los tratamientos con sus respectivos límites superiores e inferiores.

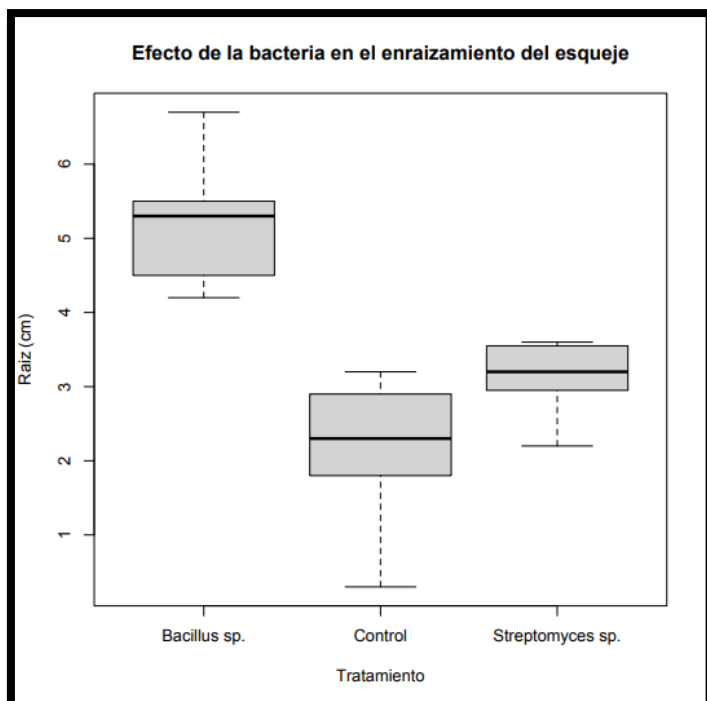
Según el ANOVA no existen diferencias significativas en el número de brotes de los diferentes tratamientos. Es decir, a pesar de la aplicación de *Streptomyces sp.* y *Bacillus sp.* no se observa diferencia con el control, si bien es cierto en este estudio no se observa diferencia significativa otros estudios afirman que promueve el crecimiento de cultivos de invernaderos mejorando así el número de brotes, altura y la biomasa radical dando así mayor capacidad a la plantas para asimilar los nutrientes del suelo (Sánchez et al., 2012).

4.2.4 Longitud de la raíz

La figura 10, muestra los resultados obtenidos en la longitud de la raíz:

Figura 10

Longitud de raíz de las plántulas de *Bougainvillea sp.*, tratada con dos bacterias promotoras de crecimiento a *Streptomyces sp.* y *Bacillus sp.* frente al control



Nota: Las graficas muestran el promedio de las repeticiones de cada tratamiento, la línea en negrita indica la media de cada uno de los tratamientos con sus respectivos límites superiores e inferiores.

Según el ANOVA si existen diferencias significativas en la longitud de la raíz de los diferentes tratamientos. Es decir, que al aplicar la bacterias *Bacillus sp.* frente a *Streptomyces sp.* y el control se observa una diferencia estadística de ($p < 0,02$). En este caso, la aplicación de las cápsulas de las dos bacterias en las plántulas de *Bougainvillea sp.* no mostraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) en cuanto a los parámetros de altura de la planta, diámetro del tallo y número de brotes, pero si se encuentra un diferencia significativa en cuanto a la longitud de la raíz en lo que respecta a *Bacillus sp.* con respecto al otro tratamiento y el testigo. Lo cual concuerda con bibliografía de Hernández et al.,(2010), donde mencionan que aplicó la misma bacteria (*Bacillus sp.*) en plantas de tomate en las cuales la cual mostró una diferencia estadística significativa de ($p < 0,01$) en cuanto al volumen radical, crecimiento y área foliar de la misma. Esto nos

da a conocer que tiene un efecto bioestimulador las cepas bacterianas de *Bacillus* similar al producido por otras rizobacterias con actividad biofertilizadora (Villareal et al., 2018).

4.3 Efecto del encapsulado de *Bacillus sp.* y *Streptomyces sp.* en el desarrollo fenológico de *Bougainvillea sp.*

El empleo de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) cobra cada día mayor auge a nivel mundial, debido al incremento en la demanda de alimentos y a la búsqueda de alternativas para lograr una agricultura cada vez más sostenible sin necesidad de dañar el medio ambiente (Gutierrez et al., 2003). Los PGPR afectan en gran medida las características del suelo y desempeñan un papel vital en la conversión de tierras estériles y de mala calidad en tierras cultivables (Chen et al., 2011). Sin embargo, se pudo observar que entre el testigo y los tratamientos inoculados si hay diferencias observacionales en el desarrollo de los esquejes como mostraré en las siguientes figuras.

Figura 11 A,B,C

A. Plántula + *Streptomyces sp.* B. Plántula + *Bacillus sp.* C. Plántulas testigo



La aplicación de *Bacillus* sp., inoculadas en las plántulas de *Bougainvillea* sp. han presentado una influencia positiva en el desarrollo de la altura, número de brotes, diámetro del tallo y longitud de raíz, es por ello que se obtuvo un mayor crecimiento frente a las plántulas inoculadas con *Streptomyces* sp. y las no inoculadas (testigo), corroborando con ello la efectividad que presentan esta cepa bacteriana en el desarrollo del cultivo.

Este estudio coincide con el realizado por Rojas et al., (2020), donde cepas de *Bacillus* sp. presentan potencialidades para ser utilizadas como promotores de la germinación y sus capacidades fisiológicas. Carreño (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.

Este estudio refuerza los resultados de la investigación de Badilla & Murillo (2005), 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. Los estudios realizados por Tany & Leiva (2019), que *Bacillus* sp. y *Streptomyces* sp son excelentes agentes de control biológico debido a su amplio repertorio para producir compuestos antifúngicos que inhiben el crecimiento micelial de varios hongos topatógenos.

Dada la importancia de la agricultura y floricultura en nuestro país, se buscan nuevas alternativas para mejorar su producción, en ese sentido los inoculantes son una alternativa económica y efectiva para obtener resultados favorables (Martínez et al., 2015).

Conclusiones

La tecnología juega un papel muy importante en el proceso de encapsulación, las UFC presentes en ellas muestran una mayor eficiencia del encapsulado, por tal motivo que al ser inoculadas en suelos en condiciones favorables facilitan la liberación de las bacterias y mejoran el enraizamiento de las plántulas.

Mediante la inoculación de las cápsulas que contiene las bacterias promotoras de crecimiento PGPR, *Bacillus sp.*, logro obtener una mayor longitud de la raíz en la plántula de *Bougainvillea sp.* en comparación con el testigo y el otro tratamiento.

Recomendaciones

Realizar un estudio de los factores ambientales como el libre acceso al lugar, tipo de suelo, luz y si cuenta con un riego adecuado para realizar dicho proyecto ya que de una u otra manera pueden afectar a los resultados obtenidos en el mismo.

Referencias

- Aguirre, Z. (2012). *Especies forestales de los bosques secos del Ecuador. Guía dendrológica para su identificación y caracterización*. Proyecto Manejo Forestal Sostenible ante el Cambio Climático. MAE/FAO–Finlandia. Quito, Ecuador.
- Alvarez, E. C., & Sánchez, L. C. (2016). *Evaluación del crecimiento de cuatro especies del género Bacillus sp., primer paso para entender su efecto biocontrolador sobre Fusarium sp.* Nova, 14(26), 53-62.
- Ampuero León, A. L. (2016). *Evaluación de actividad antibacteriana de Streptomyces sp. 6E3 aislado de minerales frente a Staphylococcus aureus meticilino resistente*.
- Arana, I., Orruño, M., & Barcina, I. (2010). Como abordar y resolver aspectos prácticos de microbiología. Enumeración de microorganismos. Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología.
- Badía, M. M. R., Hernández, B. T., Murrel, J. A. L., Mahillon, J., & Perez, M. H. (2011). Aislamiento y caracterización de cepas de Bacillus asociadas al cultivo del arroz (Oryza sativa L.). Revista Brasileira de Agroecologia, 6(1), 90-99.
- Badilla-Valverde, Y., & Murillo-Gamboa, O. (2005). *Enraizamiento de estacas de especies forestales*. Revista forestal mesoamericana Kurú, 2(6), pag-59.
- Benjumeda Muñoz, D. (2017). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones.
- Bravo, O. M. Z. *Crecimiento de Bacillus pumilus Productor de la Auxina Ácido Indolacético, Como Base para Formular un Biofertilizante en Polvo*.
- Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). *Caracterización fisiológica de cepas de Bacillus spp. aisladas de la rizósfera de papa (Solanum tuberosum)*. Ecología aplicada, 9(1), 31-39.
- Camacho, M., & La Torre, M. I. (2015). Efecto promotor de bacterias PGPR sobre cultivo de papa bajo diferentes sustratos a nivel de invernadero. The Biologist (Lima), 13(1).
- Cantero García, I. (2018). Aislamiento y selección de actinobacterias promotoras del crecimiento vegetal: efecto biofertilizante.

- Castañeta, H., Gemio, R., Yapu, W., & Nogales, J. (2011). *Microencapsulación, un método para la conservación de propiedades fisicoquímicas y biológicas de sustancias químicas*. Revista Boliviana de Química, 28(2), 135-140.
- Carreño Farfán, C. R. (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*.
- Castaño, A. M. P., Durango, D. P. M., Polanco-Echeverry, D., & Arias, J. A. C. (2021). *Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR): Una revisión sistemática 1990-2019*. Revista de Investigación Agraria y ambiental, 12(2), 161-178.
- Corral-Lugo, A., Morales-García, Y. E., Pazos-Rojas, L. A., Ramírez-Valverde, A., Martínez-Contreras, R. D., & Muñoz-Rojas, J. (2012). *Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de "Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo"*. Revista colombiana de biotecnología, 14(2), 147-156.
- Corrales Ramírez, L. C., Sánchez Leal, L. C., Arévalo Galvez, Z. Y., & Moreno Burbano, V. E. (2014). *Bacillus: género bacteriano que demuestra ser un importante solubilizador de fosfato*. Nova, 12(22), 165-178.
- Cuervo Lozada, J. P. (2010). *Aislamiento y Caracterización de Bacillus spp como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales*.
- Criollo, P. J., Obando, M., Sánchez, L., & Bonilla, R. (2012). *Efecto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a Pennisetum clandestinum en el altiplano cundiboyacense*. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 13(2), 189-195.
- Chen, H., Yu, S., Shen, X., Chen, D., Qiu, X., Song, C., & Ding, C. (2011). *The Mycoplasma gallisepticum α -enolase is cell surface-exposed and mediates adherence by binding to chicken plasminogen*. Microbial pathogenesis, 51(4), 285-290.
- Díaz, M. A. (2021). *Efecto de la aplicación de tres especies del género Bacillus sobre plantas de tomate infestadas con Nacobbus aberrans* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).

- Duhoky, M. M., & Al-Mizory, L. S. (2014). *In vitro micropropagation of selected Bougainvillea sp. through callus induction*. J Agric Vet Sci, 6, 1-6.
- Duque González, J. E. (2019). *Evaluación preliminar para aislamiento e identificación bioquímica de Streptomyces sp., a partir de un nicho ecológico del Campus Belmonte de la Universidad Libre, Seccional Pereira*.
- Espíndola, M. B. (2021). *Aplicación de biotecnologías para la propagación y conservación de "monte negro" (Bougainvillea spinosa (Cav.) Heimerl.)* (Doctoral dissertation).
- Espinoza Arauz, A. C., & Espinoza Luna, J. J. (2008). *Evaluar el crecimiento de estacas de veranera (Bougainvillea glabra choisy) bajo el efecto de biofertilizante líquido a base de estiércol vacuno* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Agraria, UNA).
- Espinosa Palomeque, B., Moreno Reséndez, A., Cano Ríos, P., Álvarez Reyna, V. D. P., Sáenz Mata, J., Sánchez Galván, H., & González Rodríguez, G. (2017). *Inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en tomate (Solanum lycopersicum L.) cv. afrodita en invernadero*. Terra Latinoamericana, 35(2), 169-178.
- Fang, Y., Li, L., Vreeker, R., Yao, X., Wang, J., Ma, Q., ... & Phillips, G. O. (2011). *Rehydration of dried alginate gel beads: Effect of the presence of gelatin and gum arabic*. Carbohydrate polymers, 86(3), 1145-1150.
- Franco Correa, M. (2008). *Evaluación de caracteres PGPR en actinomicetos e interacciones de estas rizobacterias con hongos formadores de micorrizas*.
- Gutierrez, R. T., Navarro, C. P., & Canino, N. S. (2003). *Influencia de la inoculación de rizobacterias sobre la germinación de semillas de frijol común (Phaseolus vulgaris L.)*. Centro Agrícola, 30(2), 56.
- Hernández Mendoza, J. L., Hinojosa López, P. L., Salazar Bravo, Á., García Olivares, J. G., Rodríguez Castillejos, G. C., & Quiroz Velásquez, J. D. C. (2018). *The conservation of the agricultural use bacteria Azospirillum Brasilense by microencapsulation*. Revista Boliviana de Química, 35(4), 117-122.
- Herrera Reyes, N. (2016). *Efecto de microorganismos encapsulados sobre la promoción de crecimiento de plantas jal minero* (Master's thesis, Tesis (MC)--Centro de

Investigación y de Estudios Avanzados del IPN Unidad Irapuato. Departamento de Biotecnología y Bioquímica

- Hernández-Suárez, M., Hernández-Castillo, F. D., Lira-Saldivar, R. H., & Gallegos-Morales, G. (2010). *Biocontrol de Rhizoctonia solani y Fusarium sp. con Microencapsulados de Bacillus subtilis y su Efecto en Crecimiento y Rendimiento de Tomate (Lycopersicon esculentum Mill.)*. Unidad Laguna, 7(1), 17.
- Jordá, J. V. (2010, Agosto), *Buganvilla, Buganvilia (Género Bougainvillea)* [archivo PDF]. Recuperado de <https://blog.uchceu.es/eponimos-cientificos/wp-content/uploads/sites/24/2011/10/epo-BUGANVILLA.pdf>
- Lapaz Eugui, M. I. (2011). *Aislamiento e identificación molecular de cepas de Streptomyces causantes de sarna común en la papa*.
- Lemus Angulo, J. A. (2019). *Multiplicación de Streptomyces sp. con propósitos de biocompostaje de subproductos de caña de azúcar*.
- Luna, F., & Orellana, M. (2019, Julio). *Caracterización de Bacillus subtilis aislado a partir del café variedad pacamara como agente controlador de la roya del cafeto producida por Hemileia vastatrix* [Tesis de pregrado]. Universidad de el Salvador, El Salvador Centro America.
- Martínez, F. C., Álvarez, A. E. B., Malagón, G. C., Carriel, J. M., Jaramillo, M. P., & Rosero, N. C. (2015). *Aplicación de Rizobacterias que promueven el crecimiento en plantas (PGPR) del género Pseudomonas spp como controladores biológicos de insectos y nemátodos-plagas*. Ciencia y Tecnología, 8(1), 25-30.
- Parra Huertas, R. A. (2010). Revisión: *Microencapsulación de alimentos*. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 63(2), 5669-5684.
- Pasin, B. L., Azón, C. G., & Garriga, A. M. (2012). *Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones*. Revista venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 3(1), 130-151.

- Pedraza, L. A., López, C. E., & Uribe-Vélez, D. (2020). *Mecanismos de acción de Bacillus spp.(Bacillaceae) contra microorganismos fitopatógenos durante su interacción con plantas*. Acta biológica colombiana, 25(1), 112-125.
- Pereira-Guanuche, F. A., Ruiz-Veintimill, K. S., & Pereira-Ruiz, K. M. (2017). *La flor Bunganvilla y su evaluación farmacognostica y preclínica como expectorante*. Polo del Conocimiento, 2(7), 418-429.
- Reyes Castillo, A. (2019). *Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y su aporte en la nutrición mineral de tomate (Lycopersicon sculentum L.)*.
- Rojas-Badía, M. M., Bello-González, M. A., Ríos-Rocajull, Y., Lugo-Moya, D., & Rodríguez-Sánchez, J. (2020). *Utilización de cepas de Bacillus como promotores de crecimiento en hortalizas comerciales*. Acta Agronómica, 69(1), 54-60.
- Salazar, C. M. R. (2016). *Inducción de embriones somáticos* (Doctoral dissertation, Instituto Politécnico Nacional).
- Sánchez López, D. B., Gómez-Vargas, R. M., Garrido Rubiano, M. F., & Bonilla Buitrago, R. R. (2012). *Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero*. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 3(7), 1401-1415.
- Sarmiento Gonzales, M. L. (2015). *Propagación vegetativa de la buganvilla (Bougainvillea glabra C.) en base a tres hormonas sistémicas y dos tipos de sustratos en la Estación Experimental de Cota cota* (Doctoral dissertation).
- Soto, N. L. (2013). *Efecto de aislados de los géneros Streptomyces y Bacillus como promotores de crecimiento vegetal en frijol (Phaseolus vulgaris L.)*.
- Tanya Morocho, M., & Leiva-Mora, M. (2019). *Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas*. Centro Agrícola, 46(2), 93-103.
- Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & Santos-Villalobos, S. D. L. (2018). *The genus Bacillus as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity*. Revista mexicana de fitopatología, 36(1), 95-130.

Wang, C., Wang, Y., Ma, J., Hou, Q., Liu, K., Ding, Y., & Du, B. (2018). *Screening and whole-genome sequencing of two streptomyces species from the rhizosphere soil of peony reveal their characteristics as plant growth-promoting rhizobacteria*. *BioMed research international*, 2018.