



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE AGROPECUARIA**

**CARACTERIZACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS TIPO
PGPR OBTENIDAS DE LA RIZOSFERA DE CULTIVOS
VEGETALES DE LA PARROQUIA MANGLARALTO,
PROVINCIA DE SANTA ELENA**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
MODALIDAD: TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR-TRABAJOS
EXPERIMENTALES**

Requisito parcial para la obtención del título de:

INGENIERA AGROPECUARIA

Autor: Chevez Lay Narcisa Lourdes.

LA LIBERTAD, MES 2024



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE AGROPECUARIA**

**CARACTERIZACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS TIPO
PGPR OBTENIDAS DE LA RIZOSFERA DE CULTIVOS
VEGETALES DE LA PARROQUIA MANGLARALTO,
PROVINCIA DE SANTA ELENA**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
MODALIDAD: TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR-TRABAJOS
EXPERIMENTALES**

Requisito parcial para la obtención del título de:

INGENIERA AGROPECUARIA

Autor/a: Chevez Lay Narcisa Lourdes.

Tutor/a: Blgo. Javier Soto Valenzuela, Ph.D.

LA LIBERTAD, 2024

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **NARCISA LOURDES CHEVEZ LAY** como requisito parcial para la obtención del grado de Ingeniera Agropecuaria de la Carrera de Agropecuaria.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 10/12/2024



Firmado electrónicamente por:
**ANDRÉS FERNANDO
RAMÍREZ CRUZ**

Ing. Verónica Andrade Yucailla, Ph.D.
**DIRECTORA DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

Ing. Agr. Andrés Ramírez Cruz, Mgtr.
**PROFESOR ESPECIALISTA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Firmado electrónicamente por:
**JAVIER OSWALDO SOTO
VALENZUELA**

Blgo. Javier Soto Valenzuela, Ph.D.
**PROFESOR TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Firmado electrónicamente por:
**NADIA ROSAURA
QUEVEDO PINOS**

Ing. Nadia Quevedo Pinos, Ph.D.
**PROFESORA GUÍA DE LA UIC
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Firmado electrónicamente por:
**WASHINGTON VIDAL
PERERO VERA**

Ing. Com. Washington Perero Vera,
Mgtr.
**ASISTENTE ADMINISTRATIVO
SECRETARIO**

AGRADECIMIENTOS

Principalmente, agradezco a Dios, quien me ha dado fortaleza, perseverancia y entendimiento para culminar esta etapa tan importante de mi vida.

Expreso mi más profundo agradecimiento a mi tutor, el Biólogo Javier Oswaldo Soto Valenzuela, por su sabiduría, dedicación y orientación brindada a lo largo de este proceso académico, siendo un pilar fundamental en el desarrollo de este trabajo.

A mi madre, María Lay Paredes y mis hermanos, por su amor incondicional, apoyo constante y enseñanzas que me han guiado siempre.

A mis amigos y futuros colegas, Abel, Erika, Maybbe, y a la Ingeniera Nohelia, por su amistad, motivación y valiosas contribuciones durante este camino.

Un especial agradecimiento a mi amigo y compañero Adrián, quien me brindó su ayuda desinteresada en momentos clave de este proceso.

Finalmente, agradezco a las autoridades y docentes de la carrera de Ingeniería Agropecuaria, quienes compartieron conmigo su conocimiento y experiencia, contribuyendo significativamente a mi formación profesional.

A todos, mi más sincero agradecimiento por ser parte de este logro.

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía constante, por darme fortaleza en los momentos difíciles y por bendecirme con la sabiduría para alcanzar este sueño.

A mi madre, María Lay Paredes, por su amor incondicional, sacrificio y apoyo infinito. Este logro es también suyo, por ser mi mayor inspiración y ejemplo de vida.

A mis hermanos, por su apoyo y por creer en mí, recordándome siempre la importancia de esforzarme por mis metas.

A mi tutor, el Biólogo Javier Oswaldo Soto Valenzuela, cuya dedicación y enseñanza marcaron este camino académico.

A mi abuela, Carmen Paredes Lozada, cuyo amor y enseñanzas han dejado una huella imborrable en mi vida y en este logro.

A todos aquellos que de alguna forma contribuyeron a mi formación y crecimiento, dedico este esfuerzo con profunda gratitud.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se enfoca en la caracterización de 16 cepas bacterianas obtenidas de la rizosfera de los cultivos vegetales (*Coffea canephora*, *Coffea arabica* var. *caturra*, *Pennisetum purpureum* y *Panicum maximum*) del Centro de Apoyo Manglaralto (UPSE), provincia de Santa Elena, para su recomendación como PGPR. En este contexto, se destaca el potencial de las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) asociadas principalmente a géneros como *Rhizobium* sp, *Bacillus* sp y *Pseudomonas* sp, capaces de mejorar la disponibilidad de nutrientes a través de procesos como la fijación biológica de nitrógeno y la solubilización de fosfatos. El objetivo planteado fue caracterizar cepas bacterianas tipo PGPR, empleando una metodología que incluyó pruebas bioquímicas como tinción de Gram, catalasa y la capacidad del viraje del medio; pruebas fisiológicas como la tolerancia a diferentes niveles de salinidad, pH y antibiograma, junto con ensayos de screening biológico en germinación y emergencia; también parámetros morfológicos en la etapa inicial de los cultivos medidas a los 15 DDT. Los resultados obtenidos mostraron que once de las 16 cepas estudiadas presentaron alta y mediana actividad para catalasa, tolerancia a diferentes niveles de salinidad y pH; solo dos de estas fueron ácido productoras. Mientras que, en el screening realizado en porcentaje de germinación, crecimiento radicular, altura de la planta y largo del tallo fueron significativas para las once cepas estudiadas. Por último, empleando un análisis clúster se sugiere como potenciales PGPR a las cepas VRM103, VRM104, KGM103, KGM102 y VCM104, indicando su viabilidad para ser utilizadas en prácticas agrícolas.

Palabras Claves: Rizobacterias, bioquímicas, fisiológicas, screening, ácido productoras y cepas.

ABSTRACT

This research work focuses on the characterization of 16 bacterial strains obtained from the rhizosphere of plant crops (*Coffea canephora*, *Coffea arabica* var. *caturra*, *Pennisetum purpureum*, and *Panicum maximum*) from the Manglaralto Support Centre (UPSE), in the province of Santa Elena, for their recommendation as PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria). In this context, the potential of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) associated mainly with genera such as *Rhizobium* sp, *Bacillus* sp, and *Pseudomonas* sp is highlighted, as they are capable of improving nutrient availability through processes such as biological nitrogen fixation and phosphate solubilization. The objective was to characterize PGPR-type bacterial strains, using a methodology that included biochemical tests such as Gram staining, catalase test, and medium turbidity capacity; physiological tests such as tolerance to different levels of salinity, pH, and antibiogram, along with biological screening assays in germination and emergence; as well as morphological parameters in the initial stage of the crops measured at 15 DDT (Days After Transplanting). The results obtained showed that eleven of the 16 strains studied exhibited high and medium catalase activity, tolerance to different levels of salinity and pH; only two of these were acid producers. In the screening conducted, the percentage of germination, root growth, plant height, and stem length were significant for the eleven strains studied. Finally, by using a cluster analysis, the strains VRM103, VRM104, KGM103, KGM102, and VCM104 are suggested as potential PGPR, indicating their viability for use in agricultural practices.

Keywords: Rhizobacteria, biochemical, physiological, screening, acid-producing, strains.

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

El presente Trabajo de Integración Curricular titulado “**CARACTERIZACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS TIPO PGPR OBTENIDAS DE LA RIZOSFERA DE CULTIVOS VEGETALES DE LA PARROQUIA MANGLARALTO, PROVINCIA DE SANTA ELENA**” y elaborado por **Narcisa Lourdes Chevez Lay**, declara que la concepción, análisis y resultados son originales y aportan a la actividad científica educativa agropecuaria.

Transferencia de derechos autorales.

"El contenido del presente Trabajo de Graduación es de mi responsabilidad; el patrimonio intelectual del mismo pertenece a la Universidad Estatal Península de Santa Elena".



Firma del estudiante

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
Problema Científico	2
Justificación	2
Objetivos	2
Objetivo General:	2
Objetivos Específicos:	2
Hipótesis	2
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1.1 Microbiotas presentes en suelo rizosféricos	3
1.2 Características de cepas PGPR	3
1.2.1 Mecanismos implicados en la actividad PGPR	4
1.3 Características de microorganismo PGPR	5
1.4 Pruebas bioquímicas	6
1.4.1 Tinción de Gram	6
1.4.2 Catalasa	6
1.5 Pruebas fisiológicas	7
1.5.1 Salinidad	7
1.5.2 Crecimiento de bacterias en pH	7
1.5.3 Antibiogramas	8
1.6 Screening biológico	8
1.7 Definición e importancia de las leguminosas	9
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS	10
2.1 Caracterización del área	10
2.2 Materiales, equipos y reactivos	10
2.2.1 Material biológico	10
2.2.2 Material de laboratorio	10
2.2.3 Equipos de laboratorio	2
2.2.4 Reactivos para medios de cultivo	2
2.3 Tipo de investigación	2
2.4 Diseño de investigación	12
2.4.1 Diseño experimental	12
2.5 Manejo del experimento	12
2.5.1 Esterilización de materiales	12
2.5.2 Pruebas bioquímicas	13
2.5.2.1 Tinción de Gram	13
2.5.2.2 Catalasa	13
2.5.2.3 Capacidad de viraje del medio con azul de Bromotimol	13
2.5.3 Pruebas fisiológicas	13
2.5.3.1 Crecimiento en tres concentraciones diferentes de salinidad	13
2.5.3.2 Crecimiento en tres niveles diferentes de pH	13
2.5.3.3 Antibiograma	13
2.5.4 Reactivación de aislados bacterianos	14
2.5.5 Screening biológico	14
2.5.5.1 Desinfección y germinación de semillas	14
2.5.5.2 Inoculación bacteriana en cultivos vegetales (vivero)	14
2.5.5.3 Riego	14
2.5.5.4 Raleo	15

2.6	Parámetros evaluados.....	15
2.6.1	Fisiológicos y bioquímicos de bacterias	15
2.6.1.1	Tinción de Gram	15
2.6.1.2	Catalasa.....	15
2.6.1.3	Virar el pH del medio	15
2.6.1.4	Crecimiento a diferentes niveles de salinidad.....	15
2.6.1.5	Crecimiento a diferentes niveles de pH	16
2.6.1.6	Antibiograma	16
2.6.2	Variables morfológicas	16
2.6.2.1	Porcentaje de germinación.....	16
2.6.2.2	Longitud radicular.....	16
2.6.3	Variables morfológicas (vivero) a los 15 DDT.....	16
2.6.3.1	Numero de hojas (NH).....	16
2.6.3.2	Longitud del tallo (LT)	17
2.6.3.3	Altura de la planta (AP).....	17
2.6.3.4	Longitud radicular (LR).....	17
2.6.3.5	Ancho y largo de la hoja (AH, LH)	17
2.6.3.6	Diámetro del tallo (DT)	17
2.7	Análisis estadístico de los resultados.....	17
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		18
3.1	Caracterización bioquímica de cepas bacterianas posibles PGPR.....	18
3.2	Caracterización fisiológica de cepas bacterianas posibles PGPR	19
3.2.1	Efecto de la salinidad en el crecimiento de bacterias.....	20
3.2.2	Efecto del pH en el crecimiento de cepas bacterianas.....	21
3.2.3	Evaluación de sensibilidad o resistencia de bacterias PGPR a antibióticos.....	22
3.3	Screening biológico en tres cultivos de leguminosas	23
3.3.1	Germinación y emergencia.....	23
3.3.1.1	Porcentaje de germinación en las tres leguminosas	23
3.3.1.2	Longitud radicular a los 7 días de germinación	24
3.3.2	Parámetros morfológicos evaluados a los 15 DDT (vivero).....	26
3.4	Promedios de las variables morfológicas evaluadas	30
3.5	Análisis clúster de pruebas fisiológicas y efecto de cepas bacterianas tipo PGPR en cultivos de leguminosas	31
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		33
Conclusiones		33
Recomendaciones		33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		34
ANEXOS.....		39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de tratamientos en fase de vivero de los aislados bacterianos	12
Tabla 2. Rangos para evaluar el crecimiento a diferentes niveles de NaCl de las cepas aisladas.....	15
Tabla 3. Rangos para evaluar el crecimiento a distintos niveles de pH de las cepas aisladas.	16
Tabla 4. Caracterización bioquímica de cepas posibles PGPR.....	18
Tabla 5. Crecimiento de las cepas bacterianas a diferentes concentraciones de salinidad.	20
Tabla 6. Crecimiento de las cepas bacterianas a distintos niveles de pH	21
Tabla 7. Sensibilidad y Resistencia a tres antibióticos	23
Tabla 8. Efecto de la inoculación de 16 cepas posibles PGPR en el porcentaje de germinación evaluado a los 7 días	24
Tabla 9. Efecto de la inoculación de bacterias en la longitud radicular evaluado a los 7 días	25
Tabla 10. Promedios de las variables morfológicas de las cepas bacterianas estudiadas	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Capacidad de viraje del medio LMA-ABT	19
Figura 2. Crecimiento de bacterias aisladas a diferentes niveles de salinidad.....	21
Figura 3. Crecimiento de bacterias aisladas a distintos niveles de pH.....	22
Figura 4. Crecimiento de la longitud de la raíz de semillas inoculadas con posibles cepas PGPR	26
Figura 5. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando el número de hojas a los 15 DDT.....	26
Figura 6. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando la longitud del tallo a los 15 DDT.....	27
Figura 7. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando la longitud de la planta a los 15 DDT.....	28
Figura 8. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando la longitud radicular a los 15 DDT.....	28
Figura 9. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando el ancho de la hoja a los 15 DDT.	29
Figura 10. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando el largo de la hoja a los 15 DDT.....	29
Figura 11. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando el diámetro del tallo a los 15 DDT.	30
Figura 12. Análisis clúster realizado en las pruebas fisiológicas de las 16 cepas bacterianas en estudios	32
Figura 13. Análisis de Clúster del efecto de las cepas en el crecimiento de cultivos de leguminosas	32

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1A. Reactivación de aislados bacterianos	39
Anexo 2A. Imágenes microscópicas de Tinción de Gram.....	39
Anexo 3A. Siembra en medio LMA-ABT.....	40
Anexo 4A. Siembra en medios LMA ajustados a salinidad y pH específicos.....	40
Anexo 5A. Inoculación de cepas bacterianas en semillas de tres leguminosas	41
Anexo 6A. Cultivo de leguminosas inoculadas de cepas bacterianas en fase de vivero.	41
Anexo 7A. Efecto de la inoculación de cepas bacterianas en el crecimiento de plántulas de frijol rojo.....	42
Anexo 8A. Efecto de la inoculación de cepas bacterianas en el crecimiento de plántulas de frijol mantequilla.....	42
Anexo 9A. Efecto de la inoculación de cepas bacterianas en el crecimiento de plántulas de frijolillo.	43
Anexo 10A. Estadísticos descriptivos del análisis de la Varianza de las variables en frijol rojo.....	44
Anexo 11A. Estadísticos descriptivos del análisis de la Varianza de las variables en fase in vitro y vivero de plántula de frijol mantequilla.....	48
Anexo 12A. Estadísticos descriptivos del análisis de la Varianza de las variables en fase in vitro y vivero de plántula de frijolillo	52

INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de fertilizantes químicos genera graves problemas de contaminación y disminución en los recursos de la tierra en la agricultura actual, además del incremento de los costos de producción y el impacto negativo en la salud humana y animal; nuevas investigaciones se han orientado al desarrollo de biotecnologías enmarcadas en el manejo sostenible con el fin de reducir el impacto ambiental negativo y también el uso de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) para mitigar esta problemática (Clavijo *et al.*, 2012; Sánchez y Pérez, 2018).

Estos microorganismos PGPR se encuentran asociados a la familia Enterobacteriaceae, mientras que otros están relacionados con los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Pseudomonas* (Schoebitz, 2006). Así como también, existe un gran número de rizobacterias, pertenecientes a los géneros, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Paenobacillus*, *Serratia*, *Streptomyces*, *Rhizobia*, y *Bacillus*, las cuales han sido utilizadas en formulaciones comerciales para uso agrícola (Glick, 2012, citado en Meza, 2022).

Las PGPR, pueden colonizar la rizosfera mejorando la disponibilidad de los nutrientes a través de la fijación biológica de nitrógeno, por el complejo enzimático nitrogenasa, y de la solubilización de P y K mediante la liberación de ácidos orgánicos e inorgánicos a través de acidólisis, quelación y complexólisis (Reyes, 2019). Schoebitz (2006) menciona que, estos efectos provocados por las bacterias sobre vegetales son debido a la producción de fitohormonas y a la fijación biológica de nitrógeno molecular (N₂).

En base a lo descrito se han estudiado cepas bacterianas, mostrando variabilidad y crecimiento rápido, tolerancia a valores de pH ácido, tolerancia a concentraciones moderadas de cloruro de sodio, susceptibilidad a metales pesados, resistencia a antibióticos, entre otros que corresponden a los Rizobios (López-Alcocer *et al.*, 2017).

Varios autores como González *et al.* (2017), Suárez (2013) y Torres *et al.* (2003) confirman la viabilidad de las PGPR para obtener plántulas de buena calidad. Evaluando el efecto de bacterias PGPR en cultivos de leguminosas y no leguminosas.

Este trabajo pretende contribuir con la caracterización de posibles bacterias del tipo PGPR, lo cual permitiría contribuir a la obtención de cepas prominentes que serán sugeridas para la elaboración de biofertilizantes con miras al mejoramiento del manejo agrícola.

Problema Científico

¿Los parámetros a evaluar permitirían caracterizar a las cepas como PGPR, para comprender mejor su potencial en el crecimiento de las plantas?

Justificación

El uso excesivo de fertilizantes químicos ha provocado contaminación de suelos, agua y disminución de los recursos naturales, también provocando efectos negativos en la salud humana y la economía de los agricultores.

Por esta razón, es importante la caracterización de las rizobacterias mediante diferentes pruebas morfológicas, bioquímicas y de inoculación; buscando comprobar y fortalecer su viabilidad como promotores de crecimiento vegetal ya que, estos microorganismos no solo aumentan la disponibilidad de nutrientes esenciales para las plantas, sino que también ayudan a regenerar la salud del suelo, creando un entorno agrícola más equilibrado. Presentando a las PGPR como una alternativa biológica prometedora que puede reemplazar o complementar el uso de fertilizantes químicos.

Generando conocimientos relevantes tanto para agricultores como para científicos en las áreas de microbiología y agronomía, ya que podría abrir puertas a futuras investigaciones y aplicar los resultados para mejorar la productividad de diferentes tipos de cultivos.

Objetivos

Objetivo General:

- ❖ Caracterizar dieciséis cepas bacterianas tipo PGPR obtenidas de la rizosfera de cultivos vegetales de la Parroquia Manglaralto, provincia de Santa Elena.

Objetivos Específicos:

1. Evaluar la capacidad de crecimiento que tienen las bacterias tipo PGPR, en diferentes condiciones fisiológicas y bioquímicas.
2. Comprobar el efecto positivo de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal en la germinación y el crecimiento de la etapa inicial de los cultivos *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus coccineus* y *Centrosema virginianum* en condiciones controladas.
3. Sugerir las mejores cepas evaluadas con características tipo PGPR.

Hipótesis

Los parámetros evaluados permitirán la caracterización de las cepas evaluadas, para sugerirlas como PGPR.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Microbiotas presentes en suelo rizosféricos

Apaza (2017) menciona que, la comunidad microbiana del suelo llamada también microbiota, conformada por bacterias y hongos, tiene un papel importante en la fertilidad de este, asocia a procesos reguladores del reciclaje de nutrientes (mineralización, desnitrificación, fijación de N₂, entre otros) y a la descomposición de residuos orgánicos. Esta actividad está concentrada en la parte superior del suelo, zona en la que generalmente se encuentran las raíces de las plantas. La presencia de microorganismos benéficos alrededor de la raíz establece y acelera procesos bioquímicos que influyen sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, lo que está asociado con un incremento de elementos químicos disponibles y la producción de sustancias de crecimiento o de control de patógenos.

La diversidad filogenética y funcional de las bacterias asociadas a la rizosfera de las plantas es extremadamente compleja. No obstante, ciertos géneros y especies microbianos se han asociado a un efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas. Un caso relevante son las bacterias que tienen capacidad para formar nódulos con plantas leguminosas, bacterias que se encuentran principalmente, en el orden Rhizobiales del filo Proteobacteria y se conocen globalmente como Rizobios. De todas maneras, este grupo de organismos interactúa únicamente con un grupo definido de plantas, y por ello la investigación de otros grupos microbianos es necesaria para mejorar el crecimiento de otras especies vegetales de importancia agrícola (Díaz, Molina y Tapias, 2018).

1.2 Características de cepas PGPR

Las Rhizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR), son microorganismos que se encuentran en contacto con la raíz y generan beneficios en el crecimiento de las plantas, con grandes ventajas agrícolas que, según se conoce, inducen a las plantas defensas y confieren efectos beneficiosos como: aumento del crecimiento y una baja susceptibilidad a enfermedades causadas por patógenos. Algunas de las más conocidas como las de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bradyrhizobium*, entre otras, tienen la capacidad de influenciar la tuberización de la papa, además de conferir mayor resistencia a los ambientes salinos y mejorar la síntesis de etileno (Benavides *et al.*, 2020).

Existe un gran número de bacterias consideradas PGPR, entre las que se encuentran los géneros *Azotobacter*, *Azospirillum*', *Bacillus*', *Pseudomonas*', *Paenibacillus*', *Clostridium*', *Burkholderia*', *Acetobacter*', *Enterobacter*, entre otras. La inoculación de

cultivos con suspensiones de diferentes especies PGPR y Rizobios ha sido reportada como responsable del incremento en la productividad, tasa de nodulación, materia seca y rendimientos en diferentes condiciones de clima y de suelo. En la actualidad se está estudiando el empleo de inoculaciones con bacterias fijadoras de nitrógeno y otras PGPRs. Sin embargo, son escasos los reportes sobre el proceso biotecnológico de producción de las diversas suspensiones microbianas y su posterior estabilización, para poder ser usadas en la escala de producción de cultivos (Pagliero *et al.*, 2008).

Los beneficios que se han observado al suplementar plantas con PGPR incluye la estimulación de la síntesis de sustancias reguladoras de crecimiento, la fijación de nitrógeno, la solubilización de nutrientes, la producción de sideróforos y el control de fitopatógenos, dando como resultado la promoción de crecimiento. Algunos de los géneros estudiados para su aplicación con fines agrícolas han sido: *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Beijerinckii*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Anabaena*, *Nostoc* y *Arthrobacter* (Federico, 2021).

1.2.1 Mecanismos implicados en la actividad PGPR

Las bacterias PGPR poseen diversos mecanismos para iniciar la interacción planta-bacteria, estos se clasifican en indirectos y directos (Muñoz, 2017 citado en Morales y Hernández, 2023).

Rojas (2015) menciona los mecanismos implicados en el crecimiento vegetal:

Mecanismos directos

- Fijación Biológica de Nitrógeno.
- Biosolubilización de fosfatos.
- Producción de fitohormonas.
- Producción de ACC desaminasa.

Mecanismos indirectos

- Mecanismos de biocontrol: Antibióticos, Sideróforos, Enzimas líticas y Metabolitos antifúngicos.
- Controladores de estrés, regulación de los niveles de etileno en la planta.
- Resistencia sistémica inducida.
- Compuestos orgánicos volátiles.

1.3 Características de microorganismo PGPR

Por su diversidad metabólica las rizobacterias podrían contribuir positivamente en la mejora de la productividad agrícola y la solución de problemas ambientales ocasionados por los métodos utilizados en la agricultura actual. Diversos géneros como: *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomona* (Velasco-Jiménez et al., 2020).

- ***Azospirillum***: Estas bacterias se clasifican como Gram negativas de vida libre, con formato de bastón y movimiento activo. Estas bacterias son estrictamente aerobias, cuando se les suministran fuentes nitrogenadas, es decir, cuando necesitan realizar FBN. Para promover un ambiente microaerofílico las bacterias en medio semisólido producen una película delgada en forma de velo, con concentración de oxígeno esencial para la fijación del nitrógeno y para iniciar su crecimiento (Duarte *et al.*, 2020).
- ***Azotobacter***: Las bacterias del género *Azotobacter* están conformadas por bacterias Gram negativas con capacidad para formar una estructura de resistencia denominada quiste, la cual es estructuralmente diferente a las endosporas de *Bacillus* y otros *Firmicutes* permitiendo soportar condiciones adversas, como la desecación. Se encuentra relacionado con el género *Pseudomonas* (Díaz, Molina y Tapias, 2018).
- ***Bacillus***: Este género forma parte del filo *Firmicutes* y consta de bacterias que tiñen positivo en Tinción de Gram. Además, es fenotípicamente diverso, pues sus células pueden ser bastones o filamentos esféricos, rectos, curvos o helicoidales, con o sin flagelos, así mismo con o sin endosporas resistentes al calor. Igualmente son aerobios, anaerobios facultativos o estrictos (Díaz, Molina y Tapias, 2018)
- ***Enterobacter***: El género *Enterobacter* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* está constituida por bacilos Gram negativos no esporulados, que fermentan y oxidan la glucosa, carecen de indofenol oxidasa, reducen los nitratos a nitritos y se hallan ampliamente distribuidos en la naturaleza (Capuñay y Cavero, 2019).
- ***Pseudomonas***: Las *Pseudomonas*, son bacterias aeróbicas, Gram negativas, quimios heterotróficas, móviles con forma de bacillo, pertenecientes a la clase gamma proteobacteria y a la familia *Pseudomonadaceae*. Actualmente, el género tiene relevancia en el ámbito agrícola porque ejercen estas bacterias la promoción del crecimiento en plantas, la resistencia sistémica inducida (RSI) y el control de fitopatógenos (Carrillo y Ramírez, 2022).

- ***Pseudomonas fluorescens***: Es una bacteria Gramnegativa, de forma cocobacilar, que se desarrolla de manera saprofita en el suelo. Esta especie es reconocida como una PGPR (Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal). Aunque no establece una relación simbiótica con las plantas, se encuentra en abundancia en las superficies radiculares debido a su capacidad para metabolizar diversos compuestos que las raíces producen (Venner y Martin 2009).

1.4 Pruebas bioquímicas

Permiten determinar las características metabólicas de las bacterias objeto de identificación. Algunas de estas pruebas son técnicas rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas pocas horas (Fernández-Olmos *et al.*, 2011).

1.4.1 Tinción de Gram

Es definida como una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas. La pared celular de las bacterias Gram negativas está constituida por una capa fina de peptidoglicano y una membrana celular externa, mientras que las bacterias Gram positivas poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglicano, pero no cuentan con membrana celular externa; así pues, la composición química y el contenido de peptidoglicano en la pared celular de las bacterias Gram negativas y Gram positivas explica y determina las características tintoriales (López-Jácome *et al.*, 2014).

Las bacterias pueden tener algunas de las tres formas: Esféricas o redondas (cocos), cilindroideas o en forma de bastón (bacilos) y espirale encorvados a manera de tirabuzón (espirilos) (Macías *et al.*, 2019).

1.4.2 Catalasa

La mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas producen una enzima llamada catalasa que degrada el peróxido de hidrógeno, obteniendo agua y oxígeno gaseoso el cual es liberado en forma de gas (Fernández-Olmos *et al.*, 2011).

Por otro lado, Hernández (2017) plantea que, este tipo de prueba bioquímica es muy útil para observar la presencia de la enzima catalasa encargada de descomponer el peróxido

(H₂O₂) en oxígeno y agua, se localiza en las bacterias que son aerobias y anaerobias facultativas. El método usual es realizar un frotis, agregarle una gota de peróxido, si se visualiza la formación de burbujas el resultado es positivo, mientras que si no sucede de lo contrario el resultado es negativo.

1.5 Pruebas fisiológicas

1.5.1 Salinidad

El término salinidad se refiere a la presencia en el suelo de una elevada concentración de sales que perjudican el desarrollo y crecimiento de los cultivos por su efecto tóxico y la disminución del potencial osmótico del suelo. Un nuevo enfoque biológico para disminuir los problemas de salinidad que ha ganado interés por muchos investigadores en todo el mundo es el uso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) para promover el crecimiento y rendimiento de plantas en suelos salinos (Villalobos, 2015).

La investigación realizada por Coutiño (2016) en cepas bacterianas aisladas de los nódulos de la leguminosa *Ormosia macrocalyx*, presentan en su mayoría capacidad para tolerar diferentes concentraciones de NaCl. A excepción de la concentración del 5.0% en el cual existió desarrollo únicamente de *Bacillus* sp y *Paenibacillus* sp los cuales toleran concentraciones de hasta el 5 y 7% de NaCl.

1.5.2 Crecimiento de bacterias en pH

El pH es una medida de acidez o alcalinidad, cuya escala varía entre 0 y 14, misma que determina si los nutrientes se encontrarán disponibles o no para su absorción. El rango óptimo en el que debe mantener la solución nutritiva para que exista una adecuada disponibilidad de los nutrientes es de 5 a 7, haciendo necesario su monitoreo continuo para evitar que el pH se encuentre fuera de dicho rango generando problemas nutritivos en las plantas (Oña 2020).

La mayoría de las bacterias son neutrófilos, pero existen las que se desarrollan en medios ácidos y en medios básicos (Ramirez, 2013). Según el pH óptimo de crecimiento:

- Neutrófilos: pH 6.5-7.5
- Acidófilas: pH 2-4
- Basófilas o alcalófilos: pH 8-9

López-Alcocer *et al.* (2017), realizó la prueba de pH en *Rhizobium*, los cuales se desarrollaron en medios con valores de pH iguales o mayores de 6.0 y unos pocos no crecieron en pH de 4.0 a 5.5.

Así mismo Coutiño (2016), comprobó la capacidad para tolerar diferentes niveles de pH, a excepción del pH ácido (4.0) en el cual existió desarrollo únicamente de *Pantoea* sp. también concluyó que el pH 7.0 es el adecuado para las cepas aisladas de *Ormosia macrocalyx*.

1.5.3 Antibiogramas

Los antibiogramas son ensayos in vitro realizados en condiciones específicas y estandarizadas, que proporcionan una respuesta a la susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes antibacterianos. Independiente del método seleccionado, se debe escoger un medio de cultivo que permita un buen desarrollo del microorganismo, determinar con facilidad su sensibilidad y además no debe ejercer ninguna secuela de inhibición sobre la actividad antibacteriana de los antibióticos (Bastidas y Vaca, 2018).

Con un antibiograma se pueden obtener resultados cualitativos que indican si la bacteria es sensible o resistente a un antibiótico, o cuantitativos que determinan la concentración mínima (CMI) de antimicrobiano que inhibe el crecimiento bacteriano (en µg/ml o en mg/l). La interpretación de los resultados del antibiograma (sensible, intermedio o resistente) se realiza en función de los valores establecidos por diferentes comités. Estos comités determinan y establecen puntos de corte basados en propiedades microbiológicas, la sensibilidad o resistencia de las diferentes especies bacterianas a cada antimicrobiano (Miproma, 2018).

La resistencia de los aislados de la leguminosa *Ormosia macrocalyx* a los antibióticos muestran que las bacterias no presentan inhibición alguna para los antibióticos dicloxacilina y penicilina, considerando que algunos antibióticos son muy útiles para diferenciación de especies y en algunos casos también para analizar la diversidad infraespecífica puesto que dentro de la misma especie se pueden hallar resultados variables (Coutiño 2016).

1.6 Screening biológico

El screening es un método para identificar o evaluar la eficiencia de las cepas bacterianas en plántulas a través de los principales indicadores de crecimiento de la etapa inicial de los cultivos (Dibut, et al., 1990, citado en Pilatuña, 2018).

1.7 Definición e importancia de las leguminosas

El término leguminosa se refiere a la familia de plantas cuyos frutos se desarrollan en vainas. Estas plantas se dividen en tres categorías: las oleaginosas, que incluyen el cacahuete y la soya; las hortalizas o verduras, como el ejote y los chícharos; y las legumbres, que son las semillas secas de estas plantas, incluyendo frijoles, habas, garbanzos y lentejas, entre otros. Las leguminosas son conocidas por su capacidad para fijar nitrógeno, lo que mejora la fertilidad y productividad del suelo agrícola. Por lo tanto, su cultivo favorece la agricultura sostenible y ayuda a conservar los suelos. Además, tienen una menor huella de carbono, lo que contribuye a la reducción de gases de efecto invernadero y las convierte en aliadas en la lucha contra el cambio climático (UNAM, 2020).

Las leguminosas, a través de la historia, siempre han sido un recurso alimenticio de importancia para la alimentación humana y representan una fuente económica de proteínas; por otro lado, un suministro adicional de fibra a la dieta. En resumen, son un alimento de bajo costo, accesible a todos los estratos sociales de la población y relativamente fáciles de cultivar, transportar, almacenar y distribuir (García et al., 2009).

El frijol, es una de las variedades más utilizadas, se desarrolla en climas de condiciones variables, dando lugar a la selección y desarrollo de genotipos cultivados, con características diferentes. A su vez, es susceptible a enfermedades como virus del mosaico común, roya y plagas, que limitan su rendimiento, el cual fluctúa entre 600 y 900 kg ha⁻¹. En aspectos nutricionales, ésta leguminosa, es complemento de los cereales como fuente de proteína vegetal con un aporte de 22%, minerales como el hierro, calcio, potasio y fósforo, es rico en vitaminas del complejo B y bajo en sodio, a su vez, también es fuente de ingresos económicos del agricultor (Ríos 2017 citado en Herrera Flores *et al.*, 2019).

El contenido de proteínas en los frijoles varía según la especie, siendo las globulinas las más abundantes, representando entre el 35 y 45% del total, mientras que las albúminas constituyen entre el 14 y el 20%, y las prolaminas menos del 1%. En cuanto a los carbohidratos, estos son la fracción predominante en los granos de leguminosas, abarcando entre el 50 y el 70% del peso seco promedio. Los frijoles también son una buena fuente de vitaminas como tiamina, riboflavina, niacina y ácido fólico. Además, el contenido mineral de los frijoles puede variar dependiendo del material genético, las prácticas agrícolas y las condiciones de almacenamiento (Dumas, 2022).

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Caracterización del área

Este trabajo de investigación se realizó bajo condiciones controladas en el laboratorio de Análisis químicos y microbiológicos perteneciente al Centro de Investigaciones Biotecnológicas (CEB) de la Facultad de Ciencias Agrarias perteneciente a la Universidad Estatal Península de Santa Elena, ubicado en el cantón La Libertad de la provincia de Santa Elena. Cuyas coordenadas geográficas son 2.23264134 latitud sur y -80.87663769 de longitud oeste.

2.2 Materiales, equipos y reactivos

2.2.1 *Material biológico*

El material biológico para realizar este trabajo fueron dieciséis cepas bacterianas, correspondientes a la colección del CEB aisladas de la rizosfera de cultivos vegetales del Centro de Apoyo Manglaralto (UPSE).

Para las pruebas de inoculación en las plantas, se emplearon semillas recicladas de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris*), frijol mantequilla (*Phaseolus coccineus*) y frijolillo (*Centrosema virginianum*).

2.2.2 *Material de laboratorio*

- Micropipetas de 1000 μ l, 200 μ l y 10 μ l
- Puntas de micropipetas de 1000 μ l, 200 μ l y 10 μ l
- Cajas Petri de vidrio y plástico.
- Papel toalla
- Espátula
- Guantes de nitrilo
- Mascarilla
- Parafilm
- Papel aluminio
- Porta y cubre objetos
- Reglas
- Algodón
- Sustrato (viruta y afrecho de arroz)
- Macetas
- Mortero
- Mechero de alcohol y bunsen
- Vaso de precipitado
- Semillas de cultivos vegetales (frijol rojo, frijol mantequilla y frijolillo).
- Luna de reloj
- Tiras indicadoras de pH
- Beakers 250 mL y 500 mL
- Matraces Erlenmeyer 250mL, 500mL y 1000mL
- Marcador CD

- Alcohol
- Bandejas de polietileno y aluminio

2.2.3 Equipos de laboratorio

- Balanza
- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Incubadora
- Refrigeradora
- Agitador
- Microscopio

2.2.4 Reactivos para medios de cultivo

- Peróxido de hidrogeno
- Medio extracto de Levadura-Manitol-Agar (LMA) y caldo (LMC)
- Azul de Bromotimol (AB)
- Reactivos para Tinción de Gram
- Rojo Congo
- Azul de bromotimol
- Cloruro de Sodio
- Antibióticos
- Hipoclorito de sodio al 0,8%
- Ácido sulfúrico (H_2SO_2)
- Hidróxido de sódio (NaOH)

2.3 Tipo de investigación

Los estudios experimentales son esenciales en microbiología para establecer relaciones causales y evaluar el impacto de diferentes factores en el crecimiento y funcionalidad de los microorganismos, permitiendo así la obtención de resultados que pueden ser aplicados en prácticas agrícolas (Wong, 2008). En base a lo mencionado, este estudio se enmarca en el tipo de investigación experimental, donde se evaluaron las habilidades de crecimiento en condiciones extremas y la efectividad de las cepas bacterianas para su recomendación como PGPR.

2.4 Diseño de investigación

2.4.1 Diseño experimental

La caracterización de las cepas bacterianas se realizó en dos fases, la primera de manera *invitro* incluyendo pruebas bioquímicas y fisiológicas considerando como unidad experimental cada caja Petri con tres repeticiones y sus respectivos controles. También el screening inoculando las cepas bacterianas en tres semillas de cultivos de leguminosas para la evaluación del porcentaje y emergencia de las semillas con 16 tratamientos y dos controles (1) Agua destilada (2) YaraVita por triplicado.

La segunda fase en condiciones de vivero se evaluó el crecimiento de la etapa inicial en tres cultivos de leguminosas; donde se escogieron las cepas con características productoras de exopolisacáridos, mezclando dos cepas con características similares de producción de mucosidad, obteniendo ocho tratamientos; incluyendo los controles respectivos por triplicado. Se empleó un diseño experimental completamente aleatoria (DCA) y aplicando la prueba de Tukey para comparación de medias al 0.05% del límite del error (Tabla 1).

Tabla 1. Descripción de tratamientos en fase de vivero de los aislados bacterianos

Tratamientos	Aislados
T1	KGM 103 + CTM 102
T2	KGM 102 + VRM 103
T3	KGM 105 + VRM 104
T4	CTM 104 + VCM 105
T5	VRM 105 + VCM 102
T6	KGM 104 + VCM 104
T7	YaraVita (control)
T8	Agua Destilada (control absoluto)

KG: King Grass; CT: Cultivo Tanzania; M: Manglaralto;

V: Variedad; R: Robusta C: Caturra

2.5 Manejo del experimento

2.5.1 Esterilización de materiales

Se efectuó el respectivo control de la esterilización de los materiales a usar, con el objetivo de evitar contaminación de otros microorganismos no deseados; la esterilización se ejecutará en el autoclave a 121 °C a 1 atmosfera de presión, por 15 minutos.

2.5.2 Pruebas bioquímicas

2.5.2.1 Tinción de Gram

Hacer el frotis de manera regular para luego fijarlo a la flama y cubrir con cristal violeta durante 1 minuto, después lave ligeramente con agua corriente, para cubrir con Lugol durante 1 minuto, a continuación lavar con agua, decolorar con alcohol-acetona (1:1) y volver a lavar con agua, cubrir con safranina durante 30 segundos, otro lavado con agua y finalmente secar la muestra y observar al microscopio (Quinzo, 2022).

2.5.2.2 Catalasa

Se realizó un frotis sobre un portaobjetos limpio, se adicionó entre 1 y 2 gotas de peróxido de hidrógeno al 3 % (Quinzo, 2022).

2.5.2.3 Capacidad de viraje del medio con azul de Bromotimol

Se sembraron las cepas en medio LMA, añadiendo el reactivo azul de bromotimol, con un asa de platino calibrada se inculcaron 30 µl de cada cepa mediante estrías e incubadas de 5 a 7 días.

2.5.3 Pruebas fisiológicas

2.5.3.1 Crecimiento en tres concentraciones diferentes de salinidad

Se inocularon 30 uL de cada cepa, cultivada en caldo (LMC) por 48 horas en medio sólido LMARC ajustado con las siguientes concentraciones de NaCl 1.5%, 3.5% y 5.5%. Las placas se incubaron y evaluaron por 5 a 7 días observando el crecimiento de cada cepa.

2.5.3.2 Crecimiento en tres niveles diferentes de pH

Se inocularon 30 uL de cada cepa, cultivada en caldo (LMC) por 48 horas en medio sólido LMARC ajustado con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio, hasta los siguientes niveles de pH: 4, 6.5 y 8; luego fueron incubadas a 28 °C.

2.5.3.3 Antibiograma

Se elaboraron discos de sensibilidad a partir de hojas Bond de 75 g, los cuales fueron esterilizados y luego impregnados con los antibióticos ciprofloxacina, claritromicina y sulfametoxazol. Luego, con pinzas estériles se colocaron en la respectiva placa Petri previamente inoculada con la cepa bacteriana presionando ligeramente para asegurar su contacto con la superficie del Agar, según metodología descrita por Picazo (2000). Como en los ensayos anteriores, las cajas de Petri se incubaron por 5 a 7 días para su evaluación.

2.5.4 Reactivación de aislados bacterianos

Los aislados fueron reactivados en medio LMA, mediante un estriado simple en una placa Petri, incubándolas a 28 °C por 48 h, transcurrido el tiempo fueron transferidos a un tubo de ensayo con 7 mL de LMC realizando tres asadas de cada aislado, posteriormente se procedió a incubar con las mismas condiciones mencionadas, en agitación a 70 rpm por aproximadamente cinco minutos (Muyudumbay, 2024).

2.5.5 Screening biológico

2.5.5.1 Desinfección y germinación de semillas

Las semillas de leguminosas fueron adquiridas en el comercio local; para evitar los rastros de fungicida que podrían contener, fueron lavadas con agua destilada y posteriormente se desinfectaron sumergiéndolas en hipoclorito de sodio al 0,8% y agitándose de forma constante durante tres minutos, luego se lavaron tres veces con abundante agua destilada estéril.

Se colocaron 20 semillas en bandejas de poliestireno y aluminio que contenían papel filtro estéril humedecido, inoculando 10 µL del sobrenadante en cada semilla, con tres replicas por cepa. Como tratamientos testigos se incluyeron, (1) sin inocular, se adicionó solo agua destilada estéril a las semillas y (2) se adicionó el químico YaraVita, donde se obtuvo un total de 2.880 semillas inoculadas y 360 semillas sin inocular. Finalmente se rotularon las bandejas de los diferentes tratamientos y se colocaron en cámara de germinación a 25 °C por 7 días en completa oscuridad (Soto, 2020).

2.5.5.2 Inoculación bacteriana en cultivos vegetales (vivero).

A partir de los resultados obtenidos en la prueba de germinación se seleccionaron tres semillas homogéneas en base a la medición radicular, colocándolas en una maceta que contenía un sustrato con la mezcla de aserrín y afrecho de arroz mezclado con gallinaza en proporción 1:1 con capacidad de 1 kg por maceta. Se realizó la inoculación de 0.50 mL de cada aislado bacteriano mezclando las dos cepas escogidas, obteniendo 1 mL por tratamiento; a los 7 días DDT se realizó una reinoculación a las plántulas en estudio.

2.5.5.3 Riego

Se regaron las plántulas cada tres días manteniendo la humedad adecuada del sustrato.

2.5.5.4 *Raleo*

A los 10 días después del trasplante (DDT), se eliminó de cada unidad experimental, las plántulas con menor desarrollo o deformes, con el fin de mantener las mejores características fenológicas dejando al final dos plantas por maceta (Muyudumbay, 2024).

2.6 **Parámetros evaluados**

2.6.1 *Fisiológicos y bioquímicos de bacterias*

2.6.1.1 *Tinción de Gram*

Se observó en el microscopio con objetivos de 40 X y 100 X distinguiendo la coloración de las bacterias Grampositivas (morado) y gramnegativas (rosado), evaluado en porcentajes y describiendo la morfología de cada una.

2.6.1.2 *Catalasa*

Hernández (2017) menciona que, la formación de burbujas es positivo, mientras que si sucede lo contrario el resultado es negativo. Cuando el resultado de la prueba dio positiva se evaluó por la cantidad de efervescencia producida (Muy Poco: *; Poco: **; Medio: ***; Abundante: ****) acorde a Soto, Borbor y Borbor (2012)

2.6.1.3 *Virar el pH del medio*

Evaluando el cambio de color del medio en donde el color azul indica alcalinidad, amarillo acidez y sin cambio es neutro. Así mismo si presentan cambios se lo evaluó con un rango de Muy Poco: *; Poco: **; Medio: ***; Abundante: ****; Muy abundante: ***** acorde a Soto, Borbor y Borbor (2012)

2.6.1.4 *Crecimiento a diferentes niveles de salinidad*

Se midió con el calibrador Vernier el diámetro del halo de crecimiento formado por las cepas inoculadas, comparando el análisis cualitativo acorde a los rangos mencionados en la Tabla 2.

Tabla 2. Rangos para evaluar el crecimiento a diferentes niveles de NaCl de las cepas aisladas

Rango (cm)	Símbolo	Significado
0	(-)	Sin crecimiento
0,2-1,0	(+)	Regular crecimiento
1,01-1,5	(++)	Buen crecimiento
1,51-1,74	(+++)	Abundante crecimiento

Fuente: (Soto, 2020).

2.6.1.5 Crecimiento a diferentes niveles de pH

Se midió con el calibrador Vernier el diámetro del halo de crecimiento formado por las cepas inoculadas, comparando el análisis cualitativo acorde a los rangos mencionados en la Tabla 3.

Tabla 3. Rangos para evaluar el crecimiento a distintos niveles de pH de las cepas aisladas.

Rango (cm)	Símbolo	Significado
0	(-)	Sin crecimiento
0,4-1,0	(+)	Regular crecimiento
1,01-1,5	(++)	Buen crecimiento
1,51-2,4	(+++)	Abundante crecimiento

Fuente: (Soto, 2020).

2.6.1.6 Antibiograma

Se midió el diámetro del halo de inhibición formado por cada bacteria en base al antibiótico, que de acuerdo con la interpretación de los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI), se realizó el análisis cualitativo de resistencia o sensibilidad de la bacteria frente al antibiótico (IDEXX, 2023).

2.6.2 Variables morfológicas

2.6.2.1 Porcentaje de germinación

El porcentaje de germinación se evaluó contando el número de semillas que han germinado y se calcula el porcentaje utilizando la fórmula mencionada por Caroca et al. (2016):

$$\%G = \frac{(N^{\circ} \text{ de semillas germinadas})}{(N^{\circ} \text{ total de semillas})} \times 100$$

2.6.2.2 Longitud radicular

Se midió con el calibrador Vernier la longitud desde la base del tallo hasta la punta más distal de la raíz.

2.6.3 Variables morfológicas (vivero) a los 15 DDT

2.6.3.1 Numero de hojas (NH)

Por medio de la observación, se tomaron en cuenta todas las hojas formadas

completamente (Muyudumbay, 2024).

2.6.3.2 *Longitud del tallo (LT)*

La longitud del tallo se midió con el calibrador Vernier desde la base del tallo hasta el primer nudo, utilizando una regla milimétrica.

2.6.3.3 *Altura de la planta (AP)*

Medida en centímetros con calibrador Vernier, considerando la medición desde la raíz hasta la parte apical de la planta, según la metodología de Suárez (2013).

2.6.3.4 *Longitud radicular (LR)*

Se midió con el calibrador Vernier la longitud desde la base del tallo hasta la punta más distal de la raíz.

2.6.3.5 *Ancho y largo de la hoja (AH, LH)*

Se realizó la medición con calibrador Vernier escogiendo al azar máximo tres hojas y mínimo dos hojas para su respectiva evaluación.

2.6.3.6 *Diámetro del tallo (DT)*

Se midió con el calibrador Vernier el diámetro de los tallos por debajo de las hojas unifoliadas.

2.7 **Análisis estadístico de los resultados**

Los resultados de las pruebas bioquímicas y fisiológicas se procesaron en una hoja de cálculo de Excel (Microsoft) para realizar el análisis cualitativo, con esta información se elaboraron tablas y gráficos (Gómez, 2024).

Los indicadores de las pruebas en screening biológico, con la herramienta informática Infostat con la cual se elaboró un análisis de la varianza (ANOVA), presentando el coeficiente de variación y la comparación de medias, aplicando el análisis de rangos múltiples de Tukey al 0,05%. Además, para obtener grupos de características compatibles entre las cepas aisladas, se obtuvo el análisis de Clúster aglomerativo de distancias euclidianas ligado al método de Ward (Soto, 2020).

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización bioquímica de cepas bacterianas posibles PGPR

Los resultados de las pruebas bioquímicas tinción de Gram, forma de la bacteria, catalasa y viraje del medio de cultivo con azul de bromotimol realizadas en las 16 cepas de rizobacterias, se presentan en la Tabla 4.

La tinción de Gram reveló que exactamente la mitad de las cepas estudiadas fueron Grampositivas y Gramnegativas, lo que refleja una notable diversidad en la composición bacteriana de las muestras analizadas. Según Lucana y Huanca (2014), las bacterias grampositivas constituyen su pared celular más gruesa, a diferencia de las gramnegativas que posee una pared celular más fina, pero de la misma importancia que las otras destacando su habilidad para la conversión de nutrientes no asimilables a asimilables y control de enfermedades mencionado por Berruz, (2021).

Tabla 4. Caracterización bioquímica de cepas posibles PGPR

<i>CEPAS BACTERIANAS</i>	<i>Tinción de Gram</i>	<i>Forma</i>	<i>Catalasa</i>	<i>Viraje del medio Azul bromotimol</i>
<i>VRM 102</i>	(-)	Cocos	***	**
<i>VRM 103</i>	(+)	Cocos	***	**
<i>VRM 104</i>	(+)	Cocos	*	***
<i>VRM 105</i>	(-)	Cocos	**	***
<i>KGM 102</i>	(+)	Cocos	****	***
<i>KGM 103</i>	(-)	Cocobacilos	***	***
<i>KGM 104</i>	(-)	Cocos	**	****
<i>KGM 105</i>	(-)	Cocos	*	**
<i>VCM 102</i>	(+)	Cocobacilos	****	**
<i>VCM 103</i>	(+)	Cocos	*	***
<i>VCM 104</i>	(+)	Cocos	**	***
<i>VCM 105</i>	(-)	Cocos	***	**
<i>CTM 102</i>	(-)	Cocos	***	*****
<i>CTM 103</i>	(-)	Cocobacilos	**	***
<i>CTM 104</i>	(+)	Cocos	****	****
<i>CTM 105</i>	(+)	Cocos	**	****

KG: King Grass; CT: Cultivo Tanzania; M: Manglaralto; V: Variedad;

R: Robusta C: Caturra; Muy Poco: *; Poco: **; Medio: ***;

Abundante: ****; Muy abundante: *****.

La evaluación morfológica de las cepas indica una predominancia en un 81.25% con forma redonda (cocos) y un 18.75% de cocobacilos. Investigaciones anteriores, como la

realizada por Böer *et al.* (2009), han demostrado que la forma cocobacilos puede estar relacionada con la capacidad de colonización.

Pseudomonas fluorescens es un cocobacilo gramnegativo, saprófito en el suelo y es ampliamente conocido por ser una PGPR (Venner y Martin 2009); también *Bacillus* sp. que se caracteriza por ser bacteria grampositiva con forma bacilar y *Azoctobacter* conformadas también gramnegativas (Díaz, Molina y Tapias, 2018). Acorde a estos resultados las cepas KGM 103 y CTM 103 presentarían características probablemente similares a la bacteria *Pseudomonas fluorescens*.

La actividad de la enzima catalasa presenta variaciones entre las cepas, mostrando niveles particularmente elevados en las cepas KGM 102, VCM 102 y CTM 104. Acorde con De La Cruz (2018), las cepas con alta actividad de catalasa podrían poseer una ventaja en ambientes con altos niveles de oxígeno, donde el estrés oxidativo afecta a otros microorganismos.

La reacción de viraje del medio LMA con Azul bromotimol (ABT) sugiere una notable actividad metabólica en las cepas, particularmente en aquellas que afectan significativamente el pH del entorno, como por ejemplo las cepas KGM 104 y CTM 102 (Figura 1). La reacción de estas bacterias tiene un comportamiento similar al grupo del género *Rhizobium*, según Soto (2020), este grupo de rizobacterias posee con mayor frecuencia la capacidad de viraje del medio de cultivo LMA y por consiguiente ácido productoras.



Figura 1. Capacidad de viraje del medio LMA-ABT

3.2 Caracterización fisiológica de cepas bacterianas posibles PGPR

Los resultados de las rizobacterias sembradas en tres niveles de concentración de NaCl (1.5%, 3.5% y 5.5%) revelan variaciones en el crecimiento de las cepas bacterianas estudiadas.

3.2.1 Efecto de la salinidad en el crecimiento de bacterias

Todas las cepas presentaron un crecimiento de tipo regular al nivel de salinidad más bajo. En contraste, a nivel de salinidad medio el 62.5% de las cepas presentaron crecimiento bueno. Mientras que, el resto mostraron crecimiento de tipo regular. En el caso del nivel de salinidad alto, el 18.75% no presentaron crecimiento, el 31.25% crecimiento bueno y el 50% mostraron crecimiento de tipo regular, datos que se observan en Tabla 5.

Tabla 5. Crecimiento de las cepas bacterianas a diferentes concentraciones de salinidad

Tratamientos	NaCl 1,5%	NaCl 3,5%	NaCl 5,5%
T1(VRM102)	0,77 (+)	0,97 (+)	0,7 (+)
T2(VRM103)	0,6 (+)	1 (+)	0 (-)
T3(VRM104)	0,77 (+)	1,1 (++)	1,13 (++)
T4(VRM105)	0,83 (+)	1,07 (++)	1,33 (++)
T5(VCM102)	0,6 (+)	1,03 (++)	0 (-)
T6(VCM103)	0,73 (+)	1,07 (++)	0,97 (+)
T7(VCM104)	0,7 (+)	1,17 (++)	1,03 (++)
T8(VCM105)	0,67 (+)	1,43 (++)	0,9 (+)
T9(KGM102)	0,73 (+)	1,43 (++)	0,93 (+)
T10(KGM103)	0,8 (+)	1,27 (++)	0 (-)
T11(KGM104)	0,63 (+)	1,07 (++)	0,57 (+)
T12(KGM105)	0,7 (+)	0,77 (+)	0,87 (+)
T13(CTM102)	0,83 (+)	0,83 (+)	0,9 (+)
T14(CTM103)	0,77 (+)	0,93 (+)	1,03 (++)
T15(CTM104)	0,67 (+)	0,97 (+)	0,73 (+)
T16(CTM105)	0,93 (+)	1,13 (++)	1,1 (++)

KG: King Grass; CT: Cultivo Tanzania; M: Manglaralto; V: Variedad; R: Robusta C: Caturra.

En general, se observa un incremento en el crecimiento bacteriano a concentraciones de 1.5% a 3.5% de NaCl; mientras que, a 5.5% el crecimiento es variable, lo cual se muestra en la Figura 2; algunas cepas presentan una disminución notable en su desarrollo. La cepa VCM105 experimenta el mayor crecimiento respecto a las demás al nivel 3.5% (1.43 cm), mientras que en el nivel 5.5% solo creció 0.9 cm. Sin embargo, las cepas VRM104 y VRM105 mantienen el crecimiento en los tres niveles de salinidad 1.5% (0.77; 0.83cm), 3.5% (1.1; 1.07cm) y 5.5% (1.13; 1.33cm) lo que sugiere una mayor tolerancia a niveles elevados de salinidad, esto concuerda con lo mencionado por Coutiño (2016) resaltando que las bacterias *Bacillus* sp y *Paenibacillus* sp. fueron las únicas que crecieron al 5.0% tolerando concentraciones de hasta el 5 y 7% de NaCl (Nagel y Andreesen, 1991).

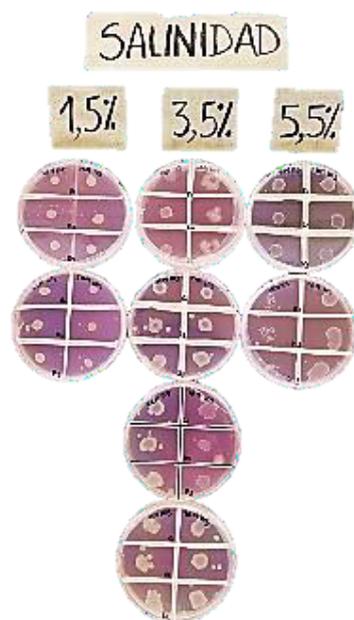


Figura 2. Crecimiento de bacterias aisladas a diferentes niveles de salinidad

3.2.2 Efecto del pH en el crecimiento de cepas bacterianas

Los resultados de los tratamientos en los distintos niveles de pH (4, 6.5 y 8) muestran variaciones en el crecimiento de las cepas que se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Crecimiento de las cepas bacterianas a distintos niveles de pH

Tratamientos	pH 4	pH 6,5	pH 8
T1(VRM102)	0,73 (+)	1,27 (++)	1,43 (++)
T2(VRM103)	0,67 (+)	1,73 (+++)	1,83 (+++)
T3(VRM104)	0,6 (+)	1,47 (++)	1,67 (+++)
T4(VRM105)	0,63 (+)	1,47 (++)	1,77 (+++)
T5(VCM102)	0,93 (+)	2,2 (+++)	1,73 (+++)
T6(VCM103)	0,63 (+)	1,77 (+++)	1,87 (+++)
T7(VCM104)	0,6 (+)	1,37 (++)	1,97 (+++)
T8(VCM105)	0,57 (+)	1,5 (++)	1,43 (++)
T9(KGM102)	0,67 (+)	1,7 (+++)	1,57 (+++)
T10(KGM103)	0,77 (+)	1,97 (+++)	2,0 (+++)
T11(KGM104)	0,67 (+)	1,07 (++)	1,53 (+++)
T12(KGM105)	0,77 (+)	1,67 (+++)	1,8 (+++)
T13(CTM102)	0,7 (+)	1,33 (++)	1,77 (+++)
T14(CTM103)	0,6 (+)	1,37 (++)	1,47 (++)
T15(CTM104)	0,57 (+)	1,73 (+++)	1,4 (++)
T16(CTM105)	0,67 (+)	1,33 (++)	1,33 (++)

KG: King Grass; CT: Cultivo Tanzania; M: Manglaralto; V: Variedad; R: Robusta C: Caturra

Los resultados a nivel de pH 4, las cepas presentan un crecimiento de tipo regular, mientras que, presentan mayor crecimiento en los niveles de pH 6.5 y 8. Destacando la capacidad de crecimiento de la cepa VCM102 pH 6.5, con un valor de 2.2 cm, lo que

sugeriría una adaptación favorable a condiciones cercanas a la neutralidad (Figura 3). Lo cual concuerda con Ramírez (2013), en que la mayoría de las bacterias son neutrófilas, pero existen las que son capaces de crecer en medios ácidos y en medios básicos.

Además, el crecimiento limitado observado a pH 4.0, revela cómo un entorno ácido puede impactar negativamente la solubilidad de nutrientes esenciales y la actividad microbiana en general, como lo reportan López-Alcocer *et al.* (2017), resaltando que las cepas bacterianas evaluadas no crecieron en pH de 4.0.

Sin embargo, la mayoría de las cepas mostraron abundante crecimiento a pH 8, destacando la cepa KGM103, con un valor de 2.0 cm. Rodrigo (2023) menciona que, muchos microorganismos crecen alrededor de pH 7, pero pueden crecer bien entre pH 5 y 8

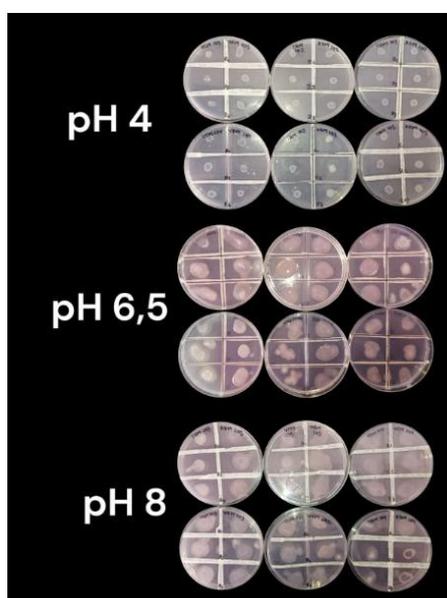


Figura 3. Crecimiento de bacterias aisladas a distintos niveles de pH

3.2.3 Evaluación de sensibilidad o resistencia de bacterias PGPR a antibióticos

El antibiograma realizado sobre las cepas bacterianas aisladas muestra la sensibilidad y resistencia a los antibióticos evaluados como se observa en la Tabla 7. De acuerdo con la interpretación de los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) (IDEXX, 2023), se clasificaron las cepas como sensibles (S) o resistentes (R). Los T6, T10, T11, T12 y T15 demostraron sensibilidad a todos los antibióticos; mientras que, T3, T7 y T8 presentaron resistencia a la totalidad de los antibióticos. Lo descrito presenta similitud con el comportamiento del género *Rhizobium* observado por López-Alcocer *et al.* (2017) pero con otro tipo de antibióticos.

Tabla 7.Sensibilidad y Resistencia a tres antibióticos

Tratamiento	Ci	Cl	E
T1 (VRM102)	S	R	S
T2 (VRM103)	R	S	S
T3 (VRM104)	R	R	R
T4 (VRM105)	R	S	S
T5 (VCM102)	R	S	S
T6 (VCM103)	S	S	S
T7 (VCM104)	R	R	R
T8 (VCM105)	R	R	R
T9 (KGM102)	R	S	R
T10 (KGM103)	S	S	S
T11 (KGM104)	S	S	S
T12 (KGM105)	S	S	S
T13 (CTM102)	R	R	S
T14 (CTM103)	R	S	S
T15 (CTM104)	S	S	S
T16 (CTM105)	R	S	R

Ci: Ciprofloxacina; Cl: Claritromicina; E: Sulfametoxazol; R: Resistente; S: Sensible

3.3 Screening biológico en tres cultivos de leguminosas

3.3.1 Germinación y emergencia

Los datos obtenidos sobre el porcentaje de germinación y longitud radicular en distintas variedades de frijol muestran diferencias significativas según los tratamientos aplicados, especificados en las Tablas 8 y 9.

3.3.1.1 Porcentaje de germinación en las tres leguminosas

Las pruebas realizadas evidencian diferencias significativas entre los tratamientos mediante el análisis de Tukey con un nivel de significancia de > 0.05 . Identificando dos grupos estadísticos para el cultivo de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris*), destacando el 100% de germinación en las cepas VRM103, VCM102, VCM103, CTM102 y CTM105.

En la variedad de frijolillo (*Centrosema virginianum*), presentaron bajos porcentajes respecto a las dos variedades de frijol, en todos los tratamientos. Sin embargo, el tratamiento VRM102 presentó el porcentaje más alto con 68.33% al contrario de los tratamientos testigos (control absoluto-AD) y (control-YaraVita) mostrando porcentajes de germinación reducidos, especialmente en el cultivo *C. virginianum* con 35%. Lo que sugiere que los tratamientos aplicados tienen un efecto positivo significativo sobre la germinación de las semillas de *P. vulgaris* y *C. virginianum*. Este hallazgo coincide con lo reportado por

Muyudumbay, (2024), quien observó mejores resultados en la germinación de maíz (*Zea mays*) con la inoculación de bacterias PGPR, a pesar de que las diferencias no fueron significativas en comparación con las plantas no inoculadas.

Es importante señalar que *C. virginianum* es originaria de los trópicos y subtrópicos, lo que justifica su clasificación como una especie forestal. Esta planta desempeña un papel crucial en la ecología de los bosques. Sin embargo, en contextos agrícolas, también es considerada una maleza debido a su capacidad para competir con cultivos por recursos esenciales como luz y nutrientes (Aponte y Jáuregui, 2019).

Tabla 8. Efecto de la inoculación de 16 cepas posibles PGPR en el porcentaje de germinación evaluado a los 7 días

TRATAMIENTOS	Porcentaje de Germinación (7 días)		
	Frijol rojo	Frijol mantequilla	Frijolillo
T2(VRM103)	100 a	98,33 a	61,67 ab
T5(VCM102)	100 a	71,67 c	56,67 ab
T6(VCM103)	100 a	98,33 a	40 ab
T13(CTM102)	100 a	95 a	50 ab
T16(CTM105)	100 a	95 a	53,33 ab
T4(VRM105)	98,33 ab	70 c	55 ab
T10(KGM103)	98,33 ab	96,67 a	43,33 ab
T14(CTM103)	98,33 ab	96,67 a	55 ab
T15(CTM104)	98,33 ab	88,33 ab	55 ab
T1(VRM102)	96,6 ab	86,67 ab	68,33 a
T3(VRM104)	96,67 ab	90 ab	63,33 ab
T7(VCM104)	96,67 ab	86,67 ab	53,33 ab
T9(KGM102)	96,67 ab	96,67 a	53,33 ab
T18(Q-YARAVITA)	96,67 ab	98,33 a	45 ab
T8(VCM105)	95 ab	90 ab	53,33 ab
T12(KGM105)	95 ab	96,67 a	61,67 ab
T11(KGM104)	93,33 ab	78,33 bc	53,33 ab
T17(CONTROL-AD)	85 b	100 a	35 b
CV	4,6	5,2	18,51

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

En el caso de *P. coccineus*, se evidenció que los tratamientos T2 y T6 con 98.33% son iguales al control (YaraVita), lo cual difiere con el trabajo de Granda-Mora et al. (2024) cuyos resultados fueron superiores al control en el mismo cultivo.

3.3.1.2 Longitud radicular a los 7 días de germinación

Según análisis de Tukey con un nivel de significancia de > 0.05 , existen diferencias significativas en los tratamientos evaluados en el cultivo de frijol rojo (*P. vulgaris*),

destacando el tratamiento CTM104 con una longitud radicular de 19.33 cm. Así mismo, para el cultivo de frijolillo (*C. virginianum*) alcanzando una longitud máxima de 2.2 cm en el tratamiento VRM102. Mientras que, en frijol mantequilla (*P. coccineus*), según análisis de Tukey no hay diferencia significativa entre los tratamientos KGM103, KGM104 y KGM105 siendo los mejores tratamientos para el cultivo con longitudes de 9.74, 10.27 y 9.93 cm.

Según Angulo et al. (2014), evaluando 15 cepas bacterianas, confirmaron significativamente el crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*, aumentando la longitud de la raíz.

Tabla 9. Efecto de la inoculación de bacterias en la longitud radicular evaluado a los 7 días

TRATAMIENTOS	Longitud radicular (cm) (7 días)		
	Frijol rojo	Frijol mantequilla	Frijolillo
T15(CTM104)	19,33 a	5,37 def	1,53 abc
T14(CTM103)	18,17 ab	8,2 abcd	1,7 abc
T16(CTM105)	17,93 ab	9,17 ab	1,37 abc
T2(VRM103)	15,97 ab	5,54 def	1,8 abc
T6(VCM103)	15,87 ab	8,87 abc	1,1 bc
T3(VRM104)	15,27 ab	5,97 bcdef	1,67 abc
T8(VCM105)	15,9 ab	9 ab	1,57 abc
T10(KGM103)	15,1 ab	9,74 a	1,5 abc
T13(CTM102)	15,6 ab	6,43 bcde	1,57 abc
T5(VCM102)	14,73 ab	7,97 abcd	1,87 ab
T11(KGM104)	14,23 ab	10,27 a	1,67 abc
T4(VRM105)	13,77 b	5,72 cdef	1,77 abc
T7(VCM104)	13,57 b	7,6 abcd	1,53 abc
T9(KGM102)	12,97 b	7,29 abcd	1,27 abc
T1(VRM102)	12,9 b	2,87 f	2,2 a
T12(KGM105)	12,9 b	9,93 a	1,57 abc
T18(Q-YARAVITA)	5,43 c	3,3 ef	0,83 c
T17(CONTROL-AD)	4,57 c	5,23 ef	0,83 c
CV	12,54	14,78	21,97

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

En este estudio, tanto el control absoluto como el tratamiento control-YaraVita mostraron las longitudes radiculares más bajas en todas las variedades analizadas, indicando que varios de los tratamientos aplicados favorecen la longitud de las raíces en los cultivos. La Figura 4 presenta el efecto positivo de las cepas en las semillas de *P. vulgaris* (A), *P. coccineus* (B) y *C. virginianum* (C), un aspecto fundamental para lo que sugiere efectividad en la estimulación del crecimiento radicular, como se menciona en el trabajo de Borbor (2013).

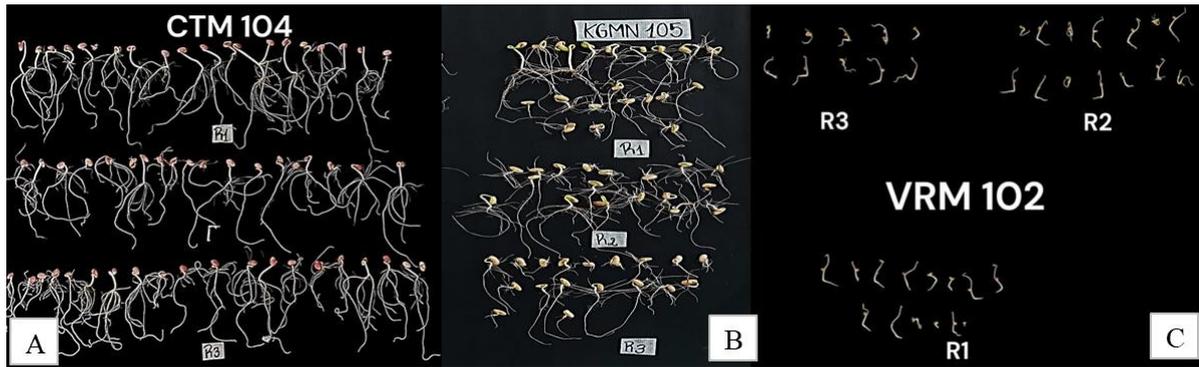


Figura 4. Crecimiento de la longitud de la raíz de semillas inoculadas con posibles cepas PGPR.

3.3.2 *Parámetros morfológicos evaluados a los 15 DDT (vivero)*

A continuación, se presenta un análisis detallado de los efectos de los tratamientos aplicados a las diferentes variedades de leguminosas estudiadas en este trabajo, considerando el número de hojas, longitud del tallo, longitud de la planta, longitud radicular, ancho de la hoja, largo de la hoja y diámetro del tallo.

Número de hojas: El T8 tuvo un promedio de 8 hojas y el T3 generó un promedio de 6.5 hojas, con diferencias significativas en el cultivo de frijol rojo. En cambio, en el frijol mantequilla y frijolillo se obtuvieron promedios constantes de 5 y 2 hojas, evidenciando que las dos variedades no mostraron diferencias significativas mostrándose en la Figura 5. Estos resultados indican que los tratamientos con inoculación de cepas bacterianas no produjeron efectos positivos en comparación con los controles de agua destilada y químico.

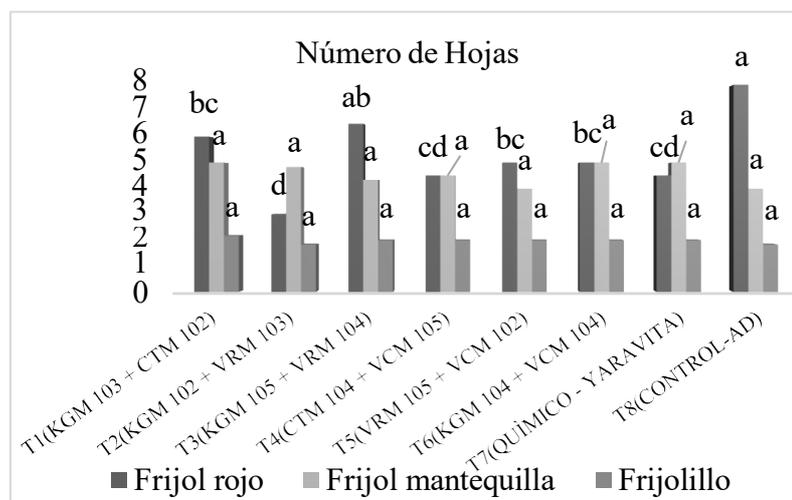


Figura 5. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando el número de hojas a los 15 DDT.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Longitud del tallo: En el frijol rojo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, mientras que, en el frijolillo si hubo diferencias significativas pero ningún tratamiento con inoculación supero al T8, mostrando que la inoculación de las cepas posibles PGPR no presenta un efecto positivo, comparado con los controles. Sin embargo, en el frijol mantequilla, el T2 sobresalió con una media de 24.83 cm, evidenciando un efecto positivo de las cepas utilizadas (Figura 6).

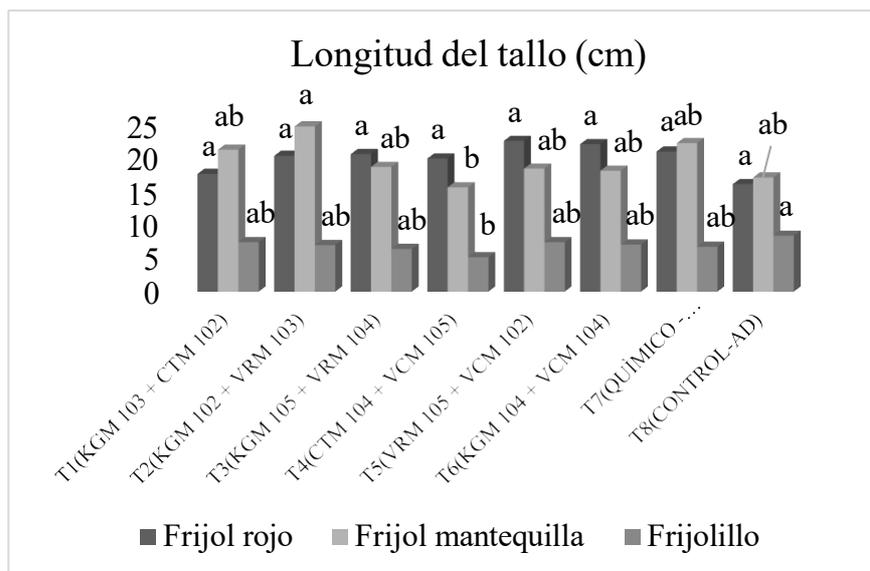


Figura 6. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando la longitud del tallo a los 15 DDT.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Longitud de la planta: Los resultados que se muestran tienen diferencias significativas, según la prueba de Tukey, donde los T7 y T8 muestran promedios inferiores a los tratamientos con inoculación destacándose el T3 en el frijol rojo, con una longitud promedio de 84.75 cm, en el frijol mantequilla, el T4 propició un buen desarrollo, con un promedio de 49.58 cm y el T5 en el frijolillo, alcanzando 15.03 cm, observados en la Figura 7. Destacando el efecto positivo de la inoculación de cepas en las plantas seleccionadas, coincidiendo con Suárez (2013), mediante la inoculación de rizobacterias en el cultivo de soya, alcanzando una altura promedio de 47.78 cm, frente a 30.55 cm en el tratamiento sin inoculante.

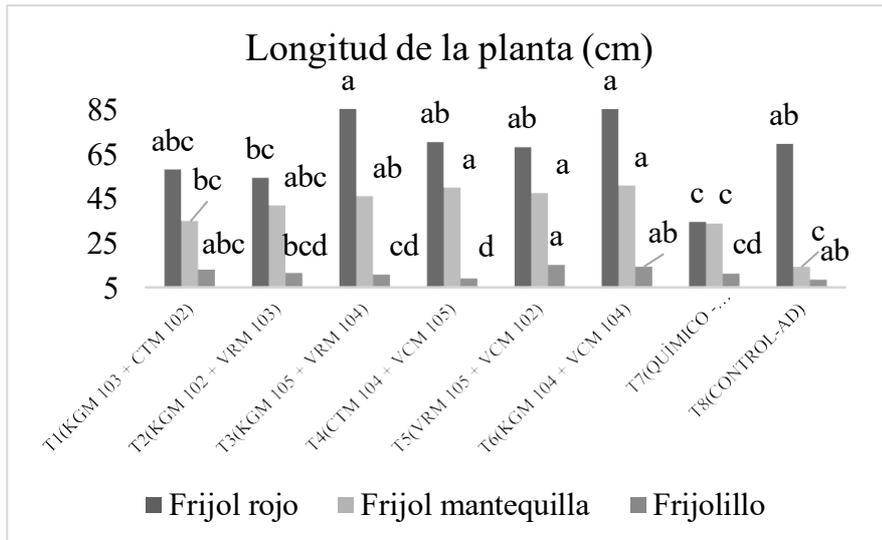


Figura 7. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando la longitud de la planta a los 15 DDT.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Longitud radicular: Las diferencias significativas ($p > 0,05$) en esta variable, revelaron la formación de entre dos y tres grupos estadísticos. El T6 presentó resultados destacados en el frijol rojo, con una longitud radicular de 25 cm. En las otras variedades, las longitudes radiculares fueron considerablemente menores, con un promedio de 6.33 cm (Figura 8). Estos hallazgos difieren de los obtenidos por Torres et al. (2003), quienes reportaron que la inoculación de *Azotobacter* no afectó el crecimiento radicular en el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.).

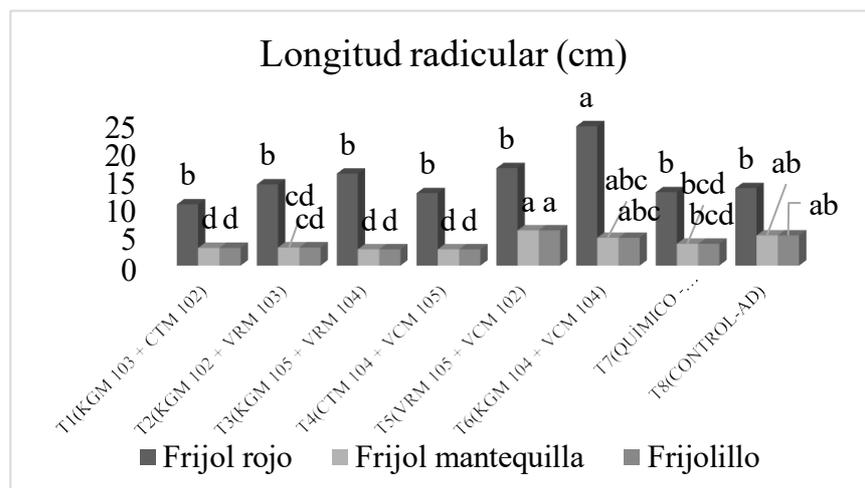


Figura 8. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando la longitud radicular a los 15 DDT.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Ancho de la hoja: Las cepas inoculadas no mostraron un efecto positivo en esta variable presentando en el control YaraVita las medidas más altas en los tres cultivos seleccionados (Figura 9).

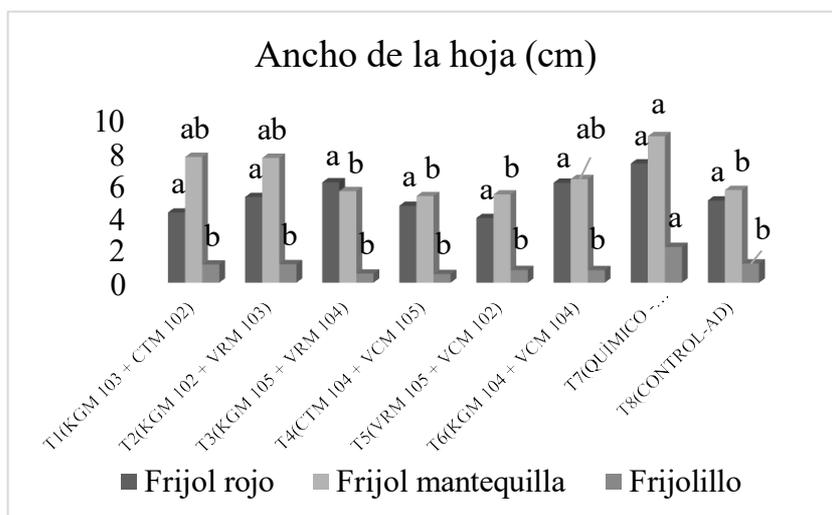


Figura 9. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando el ancho de la hoja a los 15 DDT.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Largo de la hoja: Los datos revelan que el T2 logró un promedio de 11.25 cm en el frijol mantequilla, sobresaliendo respecto a los demás tratamientos. Las demás variedades presentaron longitudes menores, estando por debajo de las observadas en el frijol mantequilla bajo este tratamiento específico como se muestra en la Figura 10.

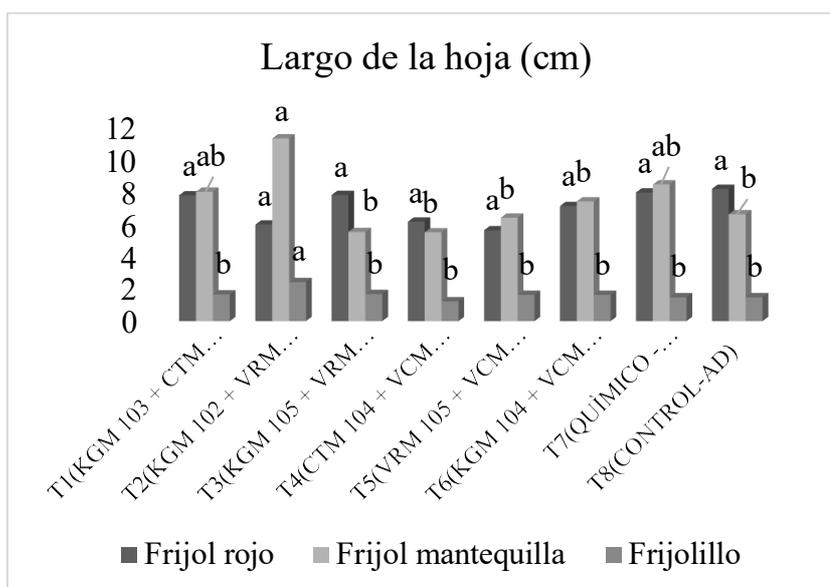


Figura 10. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando el largo de la hoja a los 15 DDT.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Diámetro del tallo: En esta variable, todos los tratamientos mostraron medidas similares, que oscilaron entre 0.35 y 0.42 cm, sin diferencias significativas con respecto al control absoluto. Esto sugiere que ninguno de los tratamientos aplicados influyó en el diámetro del tallo.

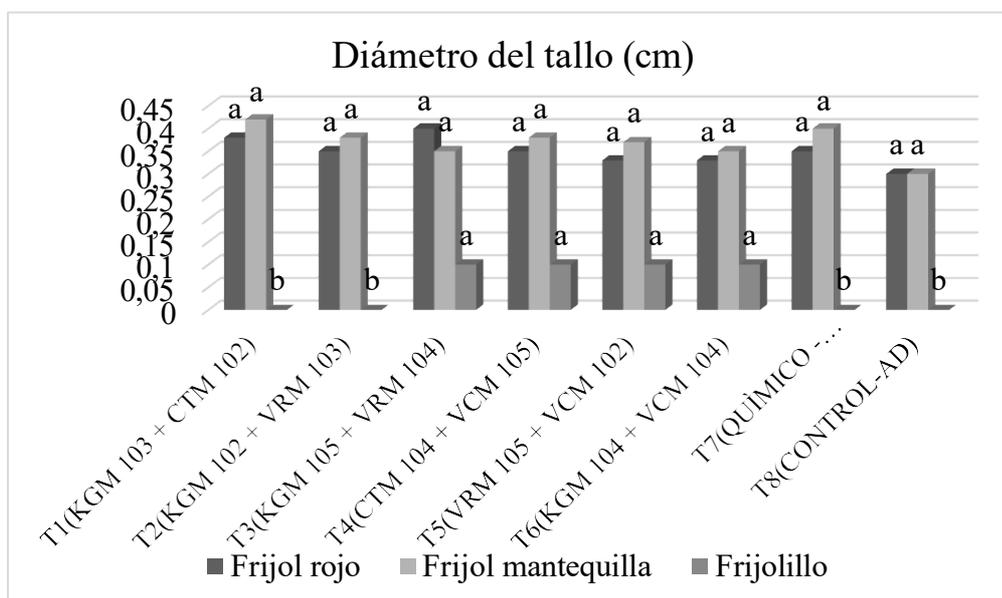


Figura 11. Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, en cultivos de leguminosas evaluando el diámetro del tallo a los 15 DDT.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

3.4 Promedios de las variables morfológicas evaluadas

Estos promedios generales se obtuvieron de medidas de las variables evaluadas en los tres cultivos de leguminosas con la finalidad de obtener el mejor tratamiento.

Los resultados de la Tabla 10 muestran que el T2 destaca en dos métricas, alcanzando 17.42 cm en LT y 6.54 cm en LH; así mismo, el T6 con altura máxima de la planta de 49.81 y una longitud de raíz de 14.72 cm. Comparado con el control absoluto presentando un rendimiento inferior en estas variables, confirmando el efecto de la inoculación bacteriana en algunos parámetros morfológicos de los cultivos. Resultados similares a González *et al.* (2017), confirmando la viabilidad de las PGPR, promoviendo mayor altura y mejor producción de biomasa seca radical y área en plántulas de chile poblano. También Jaramillo (2005) observó mejoras en el crecimiento y desarrollo del frijol mediante la aplicación PGPR. Sin embargo, los controles 1 y 2, presentaron valores de 6.18 cm en AH y 4.61 cm en NH, muestran que algunos tratamientos no tuvieron respuesta en ciertas variables.

Tabla 10. Promedios de las variables morfológicas de las cepas bacterianas estudiadas

TRATAMIENTOS	NH	LT	LP	LR	AH	LH	DT
T8(CONTROL-AD)	4,6 a	13,9 b	39,1 bc	11,4 bcd	4 b	5,43 abc	0,2 a
T1(KGM 103 + CTM 102)	4,4 ab	15,5 ab	35,1 cd	8,73 d	4,4 b	5,8 ab	0,27 a
T3(KGM 105 + VRM 104)	4,27 ab	15,3 ab	47,1 ab	11,7 bc	4,13 b	4,97 bc	0,3 a
T6(KGM 104 + VCM 104)	4 abc	15,8 ab	49,8 a	14,7 a	4,43 b	5,37 abc	0,27 a
T7(QUÍMICO - YARAVITA)	3,83 abc	16,7 a	26,4 d	9,47 cd	6,17 a	5,93 ab	0,27 a
T4(CTM 104 + VCM 105)	3,67 bc	13,6 b	42,8 abc	10,9 bcd	3,53 b	4,3 c	0,3 a
T5(VRM 105 + VCM 102)	3,67 bc	16,2 ab	43,3 abc	13 ab	3,4 b	4,53 c	0,3 a
T2(KGM 102 + VRM 103)	3,23 c	17,4 a	35,7 cd	9,63 cd	4,7 ab	6,57 a	0,23 a
CV	7,07	6,08	8,39	9,27	13,52	7,94	15,31

Numero de hojas (NH); longitud del tallo (LT); altura de la planta (AP); longitud radicular (LR); ancho y largo de la hoja (AH, LH); diámetro del tallo (DT).

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

3.5 Análisis clúster de pruebas fisiológicas y efecto de cepas bacterianas tipo PFPR en cultivos de leguminosas

El análisis de clúster (corte $>5,20$) realizado en pruebas fisiológicas generó tres grupos. En el primero se agrupan las cepas KGM 102, VCM 105, VCM 104 y VRM 104. En el segundo grupo VCM 102, VRM 103 y KGM 103; y CTM 104, VCM 103, KGM 105, KGM 104, VRM 105, CTM 103, CTM 102 y VRM 102, en el tercer grupo, resultados evidenciados en la Figura 12.

Las cepas en el primer grupo mostraron respuestas cercanas en cuanto a las condiciones de salinidad, pH y resistencia a los antibióticos ciprofloxacina y sulfametoxazol. Al contrario del segundo agrupamiento donde no hubo crecimiento en concentraciones altas de salinidad, pero se distinguieron en pH neutro y alcalino presentando un promedio de 1,4 a 2 cm, pero sensibles a los antibióticos. El tercer grupo muestra bajo crecimiento en altas concentraciones de salinidad, pero un buen crecimiento en pH neutro y abundante crecimiento a pH alcalino, sin embargo, la mayoría de estas cepas son sensibles a los tres antibióticos.

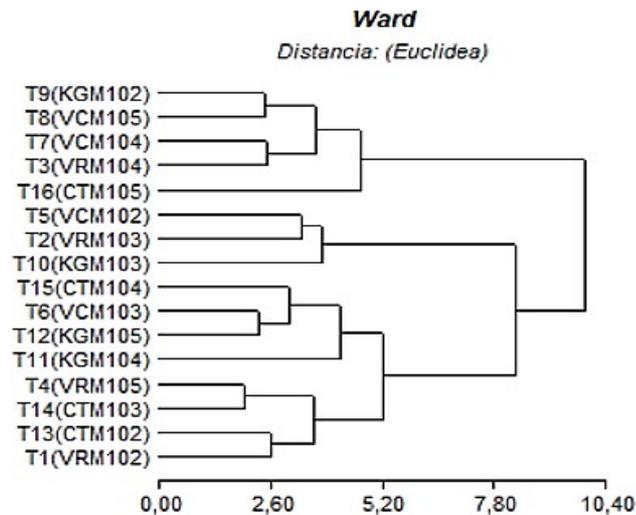


Figura 12. Análisis clúster realizado en las pruebas fisiológicas de las 16 cepas bacterianas en estudios

Adicionalmente se realizó un análisis clúster con los resultados del efecto de las 12 cepas seleccionadas en variables de crecimiento de tres cultivos de leguminosas presentando dos grupos, a una distancia calculada de 8,98 (Figura 13).

El primer grupo están los tratamientos T8, T6, T5, T4 y T3 con características similares en función de diversas variables y el segundo T2, T7 y T1, sin embargo, el T2 (KGM 102 + VRM 103) parece inducir un crecimiento significativo en comparación con el control YaraVita, lo cual indica el efecto positivo de estas dos cepas en el desarrollo de los cultivos.

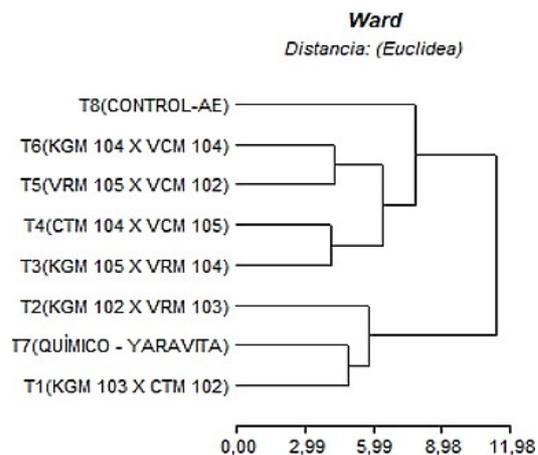


Figura 13. Análisis de Clúster del efecto de las cepas en el crecimiento de cultivos de leguminosas

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

1. Los análisis bioquímicas y fisiológicas de las cepas bacterianas revelaron que KGM 103, KGM 104, CTM 103 y CTM 102 presentarían características y comportamientos similares a las rizobacterias. La tolerancia a diferentes niveles de salinidad y pH confirman la adaptación que presentan en diversas condiciones. Las cepas VRM 104 y VRM 105 demostraron una notable capacidad de crecimiento en ambientes con alta salinidad (5.5% NaCl). Lo cual nos permiten aproximarnos a una tipificación como PGPR.
2. Las cepas bacterianas VRM 103, VRM 104, KGM 103, VCM 104, KGM 102, KGM 104, CTM 104, VRM 102 y CTM 103 mostraron un impacto positivo en la germinación de cultivos de *Phaseolus vulgaris*, *P. coccineus* y *Centrosema virginianum*, alcanzando promedios superiores al 95% y longitudes radiculares que oscilan de 2.2 a 19.33 cm a los 7 días de evaluados, también presentaron efecto positivo en varios parámetros morfológicos evaluados en fase de vivero.
3. Finalmente, mediante el resultado del análisis clúster considerando las pruebas fisiológicas y también el desarrollo de varios parámetros morfológicos de los cultivos se sugiere como potenciales PGPR a las cepas VRM103, VRM104, KGM103, KGM102 y VCM104.

Recomendaciones

Completar la caracterización con pruebas adicionales como producción de ácido indolacético (AIA), solubilización de fosfatos y cálcicos; también incluir análisis molecular para su clasificación taxonómica.

Incluir inoculaciones en otros cultivos vegetales de interés económico.

Se recomienda que las cepas sugeridas como posibles PGPR sean consideradas para ensayos a mayor escala en suelos agrícolas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angulo, V.C. *et al.* (2014) ‘Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*’, *Revista Argentina de Microbiología*, 46(4), pp. 338–347. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70093-8](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70093-8).
- Apaza, L.D.V. (2017) Aislamiento e identificación de potenciales rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas de una especie vegetal nativa promisoría del distrito de yarabamba, arequipa. Universidad nacional de san agustín. Available at: <https://repositorio.unsa.edu.pe/server/api/core/bitstreams/50540083-ef0d-4823-8a1f-1a1bc5babc1a/content>.
- Aponte, Y. y Jáuregui, D. (2019) ‘Morfoanatomía floral y algunos aspectos reproductivos de cinco especies de centrosema (dc.) benth. (fabaceae)’, *Ernstia*, 29(2), pp. 1–40.
- Bastidas, Y.E. y Vaca, J.K. (2018) Caracterización de microorganismos con actividad antimicrobiana provenientes de suelos de los cantones Quito y Rumiñahui. bachelorThesis. Available at: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16074> (Accessed: 29 October 2024).
- Benavides, D.A.M. *et al.* (2020) ‘Evaluación del potencial de bacterias promotoras de crecimiento vegetal pgpr, aplicadas a cultivos de papa en condiciones de invernadero’. Available at: <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/82/PGPR-Proyecto%20de%20grado%20Daniela%20Y%20Mar%C3%ADa%20Fernanda..pdf?sequence=12&isAllowed=y>
- Berruz, C.N.F. (2021) ‘Importancia de las bacterias Gram negativas benéficas en la agricultura’. Experimental. Técnica de Babahoyo. Available at: <https://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/9221/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000299.pdf?sequence=1> (Accessed: 29 October 2024).
- Böer, S.I. *et al.* (2009) ‘Time- and sediment depth-related variations in bacterial diversity and community structure in subtidal sands’, *The ISME Journal*, 3(7), pp. 780–791. Available at: <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.29>.
- Borbor, G. (2013) *Producción de maíz a partir de semillas inoculadas con Rhizobium sp. en Manglaralto, cantón Santa Elena*. bachelorThesis. Universidad Estatal Península de Santa Elena. Available at: <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/2245> (Accessed: 29 October 2024).
- Capuñay, F.G.C. y Cavero, J.G.M. (2019) *Efecto de Azotobacter spp. y enterobacterias en el desarrollo vegetativo de Asparagus officinalis L., en condiciones de invernadero*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Available at: https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/9058/Chafloque_Capu%C3%B1ay_Fernando_Gianmarco_y_Monje_Cavero_Jair_Gianpierre.pdf?sequence=5&isAllowed=y (Accessed: 1 December 2023).
- Carrillo, R.S. y Ramírez, P.G. (2022) ‘Pseudomonas spp. benéficas en la agricultura’, p. 11.

- Caroca, R., Zapata, N. y Vargas, M. (2016) ‘Efecto de la temperatura sobre la germinación de cuatro genotipos de maní (*Arachis pintoi*)’
- Díaz, S.P., Molina, D.C.M. y Tapias, D.F.R. (2018) ‘Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: filogenia, microbioma, y perspectivas’.
- Coutiño, J.T. (2016) ‘Diversidad de rizobacterias asociadas a la leguminosa arbustiva *ormosia macrocalyx* y su potencial biotecnológico’. Available at: <http://repositorio.digital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/handle/123456789/3211> (Accessed: 29 October 2024).
- Clavijo, C. *et al.* (2012) ‘Aislamiento, caracterización e identificación de bacterias diazotróficas de la rizósfera del cultivo de *Olea europea* “olivo” en Tacna Perú’, *Ecología Aplicada*, 11(2), pp. 89–102.
- De La Cruz, A. (2018) ‘Evaluación de Microorganismos de Algunos Suelos Procedentes de la Región de Azuero’, pp. 51–64.
- Dumas, F.E. (2022) Información nutricional y actividad biológica del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Técnica de Ambato. Available at: <https://repositorio.uta.edu.ec/server/api/core/bitstreams/ef36849e-d7de-4d80-bc51-0be3ddc95096/content> (Accessed: 6 November 2024).
- Federico, A.G.C. (2021) *Bioprospección y caracterización de bacterias endófitas de Solanum hindsianum como promotoras de crecimiento vegetal en solanáceas de interés agrícola en Baja California*. Available at: https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/3628/1/tesis_Ana%20Guadalupe%20Corral%20Federico_25%20oct%202021.pdf.
- Fernández-Olmos, A. *et al.* (2011) *Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología*. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X11001571> (Accessed: 26 November 2023).
- García, O., Infante, R. y Rivera, C. (2009) ‘Las leguminosas, una fuente importante de fibra alimentaria: Una visión en Venezuela’, *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 40(1), pp. 57–63.
- González, A. *et al.* (2017) ‘Caracterización y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de chile poblano (*Capsicum annuum* L.)’, *Revista internacional de contaminación ambiental*, 33(3), pp. 463–474. Available at: <https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.03.09>.
- Granda-Mora, K. *et al.* (2024) ‘Inoculantes microbianos comerciales con PGPR sobre variables productivas y económicas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)’, *Agronomía Mesoamericana*, p. 55654. Available at: <https://doi.org/10.15517/am.2024.55654>.

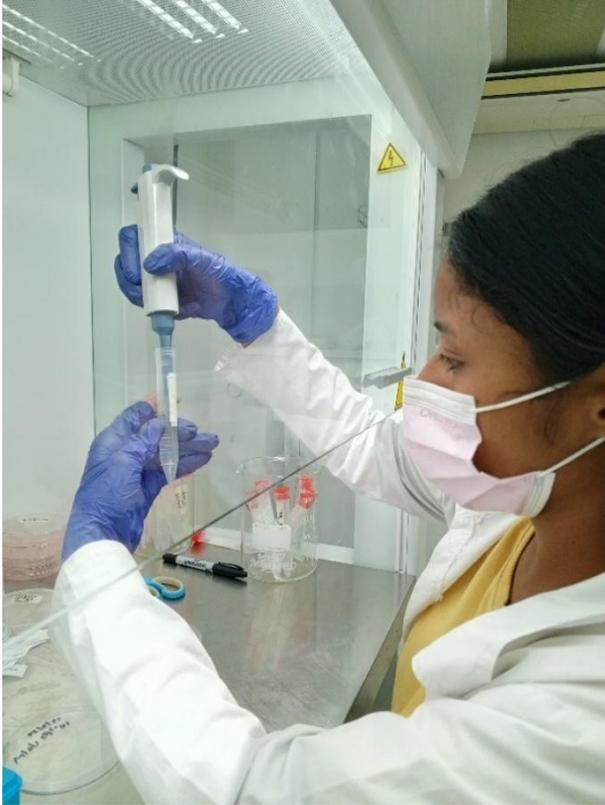
- Hernández, J.R. (2017) Caracterización microbiana, issuu. Available at: https://issuu.com/jazinaruizhernandez/docs/unidad_3._caracterizacion_microbian (Accessed: 27 November 2023).
- Herrera Flores, T.S. et al. (2019) ‘Tasas de crecimiento económico de leguminosas de bajo consumo de agua’, *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(5), pp. 987–998. Available at: <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i5.1852>.
- IDEXX, L. (2023) ‘Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI)’, p. 3.
- Jaramillo, D.F. (2005) ‘Efecto de la variabilidad sistemática en experimentos de fertilización con frijol. Primera siembra’, *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 58(1), pp. 2717–2732.
- López-Alcocer, J.D.J. et al. (2017) ‘Caracterización morfológica y bioquímica de cepas de *rhizobium* colectadas en frijol común silvestre y domesticado’, *Revista Fitotecnia Mexicana*, 40(1), pp. 73–81. Available at: <https://doi.org/10.35196/rfm.2017.1.73-81>.
- López-Jácome, L.E. et al. (2014) ‘Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología’, *Investigacion en discapacidad*, pp. 10–18.
- Lucana, M.R. y Huanca, R.M. (2014) ‘Estructura Bacterina’, *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 49, p. 2589.
- Macías, A. et al. (2019) *Microbiología y salud*. 2019th edn. Área de Innovación y Desarrollo, S.L.
- Muyudumbay, A.L. (2024) *Screening de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, en el desarrollo del cultivo de maíz (Zea mays)*. Experimental. UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA (UPSE).
- Meza, J.J. (2022) Análisis cuantitativo y cualitativo de la colonización rizosférica y endófitas de bacterias nativas aisladas de *Solanum hindsianum* en distintas solanáceas de interés agrícola. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. Available at: https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/3812/1/tesis_Jenny%20Jocabet%20Meza%20Contreras_22%20nov%202022.pdf (Accessed: 24 October 2024)
- Miproma (2018) ‘Antibiograma: guía contra resistencias bacterianas’, MiProma, 6 August. Available at: <https://miproma.es/la-utilidad-de-los-antibiogramas/> (Accessed: 4 November 2024).
- Morales, I.M.M. y Hernández, D.M.G. (2023) ‘Bacterias asociadas a la rizósfera: mecanismos de interacción y métodos de identificación’, *Ciencias y tecnología*, pp. 37–43.

- Nagel, M. y Jan Andreesen (1991) *Bacillus niacini* sp. nov. a Nicotinate-Metabolizing Mesophile Isolated from Soil', *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41. Available at: <https://doi.org/10.1099/00207713-41-1-134>
- Picazo, J.J. (2000) 'Procedimientos en Microbiología Clínica', in *Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos*, p. 54.
- Pilatuña, Q.M. (2018) *Aislamiento de bacterias fijadoras de nitrógeno y bioestimuladoras del crecimiento vegetal con potencial en la producción de biofertilizantes*. Técnica de Ambato. Available at: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/28545/1/Tesis-208%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20599.pdf>.
- Quinzo, B.D.D. (2022) *Microorganismos de uso agroindustrial aislados del suelo de un bosque primario de la parroquia pungala cantón riobamba*. Escuela superior politecnica de Chimborazo. Available at: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17808/1/27T00553.pdf>.
- Ramirez, M.C. (2013) 'FISIOLOGÍA BACTERIANA', 26 March. Available at: <https://es.slideshare.net/tango67/fisiologa-bacteriana> (Accessed: 29 November 2023).
- Reyes, A.C. (2019) *Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) y su aporte en la nutrición mineral de tomate (Lycopersicon sculentum L.)*. Universidad de Concepción. Available at: <http://repositorio.udec.cl/bitstream/11594/935/1/Tesis%20Rizobacterias%20promotoras.pdf>.
- Rodrigo, G., 2023. Ph - Valores Límite De Para El Crecimiento De Microorganismos. Blog Act. Agua. Url <https://Blog.Actividaddeagua.Com/Ph-Valores-Limite-De-Para-El-Crecimiento-De-Microorganismos/> (Accessed 11.1.24).
- Rojas, J.M. *et al.* (2015) 'Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico', *Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico-Agropecuarias Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*, 17(2), pp. 24–34.
- Sánchez, D.B.L. y Pérez, J.V.P. (2018) 'Caracterización y evaluación de PGPRs sobre el crecimiento de plántulas de *Dioscorea rotundata* in vitro', *Agronomía Costarricense*, 42(2), pp. 75–91. Available at: <https://doi.org/10.15517/rac.v42i2.33780>.
- Schoebitz, M.I.C. (2006) *Aislamiento y caracterización de bacterias promotoras de crecimiento vegetal de la rizósfera de *Lolium perenne* L. de suelo volcánico (modelo género *Azospirillum* spp.)*. UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE. Available at: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2006/fas364a/doc/fas364a.pdf>.
- Soto, J., Borbor, G. y Borbor, V. (2012) 'Identificación y Caracterización de Cepas Nativas de *Rhizobium* en la Provincia de Santa Elena.', *Revista Científica y Tecnológica UPSE*, 1(1). Available at: <https://doi.org/10.26423/rctu.v1i1.8>.

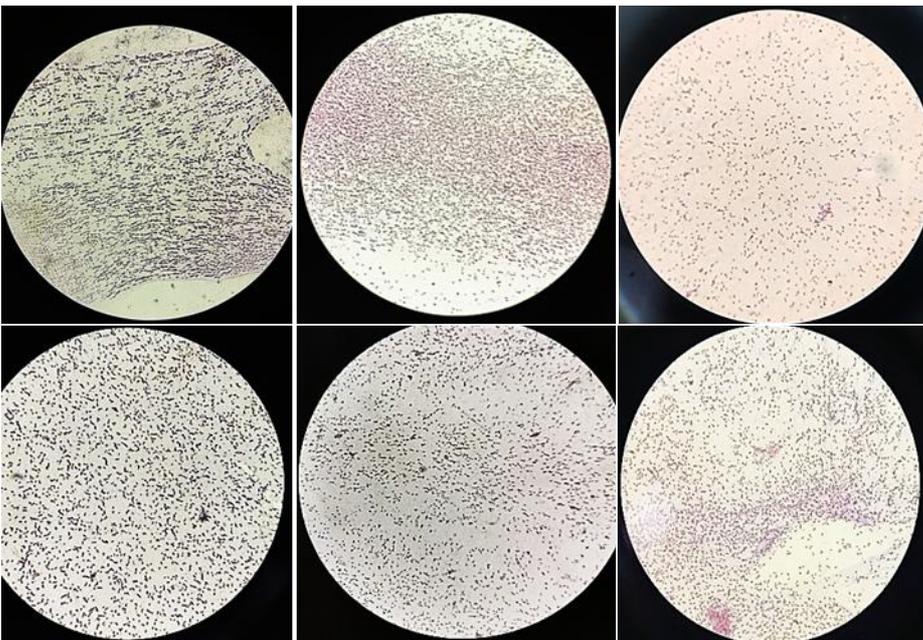
- Soto, J.V. (2020) *Taxonomía fenotípica y molecular de bacterias aisladas de nódulos de clitoria brachystegia benth., una leguminosa en peligro de extinción*. Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Suárez, A.C. (2013) Efecto de inoculación de rhizobium en el crecimiento y nutrición de plántulas de soya, en la zona de manglaralto, cantón santa elena. UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA (UPSE). Available at: <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/893/1/CATUTO%20SU%c3%81R%20ANDREA-2013.pdf>.
- Tejena, N.D.G. (2024) Estado físico, químico y microbiológico del suelo en el cultivo de café Coffea arabica L. en Manglaralto y Colonche, provincia de Santa Elena. bachelorThesis. La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2024. Available at: <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/12063> (Accessed: 18 October 2024).
- Torres, R., Navarro, C. y Canino, N. (2003) ‘Influencia de la inoculación de rizobacterias sobre la germinación de semillas de frijol común (Phaseolus vulgaris L.)’, Centro Agrícola, 30.
- UNAM (2020) ‘Las Leguminosas. Beneficios de consumirlas’. Available at: <https://www.personal.unam.mx/Docs/Cendi/leguminosas.pdf>.
- Velasco-Jiménez, A. *et al.* (2020) ‘Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura’, *Terra Latinoamericana*, 38(2), pp. 333–345. Available at: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>.
- Venner, C. y Martin, M. (2009) Aislamiento y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal en cultivos de uchuva (*physalis peruviana l.*) con capacidad antagonica frente a *Fusarium* sp. experimenta-descriptiva. Pontificia Universidad Javeriana. Available at: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8471/tesis435.pdf;sequence=1> (Accessed: 5 November 2024).
- Villalobos, M.R. (2015) Caracterización de bacterias con actividad de ACC desaminasa, como promotoras del crecimiento en Lactuca sativa L. (Lechuga) bajo estrés salino. Universidad de Guadalajara. Available at: http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5990/Ramirez_Villalobos_Jesica_Maria.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Accessed: 30 November 2023).
- Wong, E. (2008) ‘Metodología para realizar estudios de evidencia microbiológica en plantas procesadoras de alimentos’, *Agronomía Mesoamericana*, 19(1), pp. 131–137. Available at: <https://doi.org/10.15517/am.v19i1.5030>.

ANEXOS

Anexo 1A. Reactivación de aislados



Anexo 2A. Imágenes microscópicas de Tinción de Gram



Anexo 3A.Siembra en medio LMA-ABT



Anexo 4A.Siembra en medios LMA ajustados a salinidad y pH específicos



Anexo 5A. Inoculación de cepas bacterianas en semillas de tres leguminosas



Anexo 6A. Cultivo de leguminosas inoculadas de cepas bacterianas en fase de vivero.



Anexo 7A.Efecto de la inoculación de cepas bacterianas en el crecimiento de plántulas de frijol rojo.

TRATAMIENTOS	N° de hojas	Longitud del tallo (cm)	Largo de la planta (cm)	Longitud radicular (cm)	Ancho de la hoja (cm)	Largo de la hoja (cm)	Diámetro del tallo (cm)
T1 (KGM 103 + CTM 102)	6	17,7	57,67	11	4,32	7,75	0,38
T2 (KGM 102 + VRM 103)	3	20,42	54	14,58	5,27	5,95	0,35
T3 (KGM 105 + VRM 104)	6,5	20,67	84,75	16,5	6,17	7,77	0,4
T4 (CTM 104 + VCM 105)	4,5	20	70	13	4,73	6,13	0,35
T5 (VRM 105 + VCM 102)	5	22,67	67,67	17,5	3,98	5,6	0,33
T6 (KGM 104 + VCM 104)	5	22,17	84,67	25	6,15	7,1	0,33
T7 (QUÌMICO - YARAVITA)	4,5	21,05	34,3	13,17	7,33	7,92	0,35
T8 (CONTROL-AD)	8	16,17	69,25	13,92	5,05	8,15	0,3

Anexo 8A.Efecto de la inoculación de cepas bacterianas en el crecimiento de plántulas de frijol mantequilla.

TRATAMIENTOS	N° de hojas	Longitud del tallo (cm)	Largo de la planta (cm)	Longitud radicular (cm)	Ancho de la hoja (cm)	Largo de la hoja (cm)	Diámetro del tallo (cm)
T1 (KGM 103 + CTM 102)	5	21,33	34,67	3,17	7,73	7,97	0,42
T2 (KGM 102 + VRM 103)	4,83	24,83	41,67	3,25	7,67	11,25	0,38
T3 (KGM 105 + VRM 104)	4,33	18,75	45,78	2,92	5,63	5,5	0,35
T4 (CTM 104 + VCM 105)	4,5	15,67	49,58	2,92	5,33	5,47	0,38
T5 (VRM 105 + VCM 102)	4	18,5	47,17	6,33	5,43	6,37	0,37
T6 (KGM 104 + VCM 104)	5	18,17	50,5	5	6,37	7,38	0,35
T7 (QUÌMICO - YARAVITA)	5	22,33	33,58	3,92	9	8,42	0,4
T8 (CONTROL-AD)	4	17,17	14,17	5,42	5,7	6,58	0,3

Anexo 9A.Efecto de la inoculación de cepas bacterianas en el crecimiento de plántulas de frijolillo.

TRATAMIENTOS	N° de hojas	Longitud del tallo (cm)	Largo de la planta (cm)	Longitud radicular (cm)	Ancho de la hoja (cm)	Largo de la hoja (cm)	Diámetro del tallo (cm)
T1 (KGM 103 + CTM 102)	2,17	7,42	13	3,17	1,12	1,65	0
T2 (KGM 102 + VRM 103)	1,83	7	11,42	3,25	1,14	2,41	0
T3 (KGM 105 + VRM 104)	2	6,42	10,75	2,92	0,57	1,67	0,1
T4 (CTM 104 + VCM 105)	2	5,17	9	2,92	0,53	1,22	0,1
T5 (VRM 105 + VCM 102)	2	7,42	15,03	6,33	0,78	1,62	0,1
T6 (KGM 104 + VCM 104)	2	7,08	14,25	5	0,77	1,62	0,1
T7 (QUÌMICO - YARAVITA)	2	6,75	11,17	3,92	2,2	1,47	0
T8 (CONTROL-AD)	1,83	8,42	8,42	5,42	1,18	1,47	0

Anexo 10A. Estadísticos descriptivos del análisis de la Varianza de las variables en frijol rojo

Análisis de la varianza

Porcentaje de germinación

Variable N R² R² Aj CV

%G (FR) 54 0,48 0,23 4,60

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	654,17	17	38,48	1,93	0,0477
TRATAMIENTOS	654,17	17	38,48	1,93	0,0477
Error	716,67	36	19,91		
Total	1370,83	53			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=13,66261

Error: 19,9074 gl: 36

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T5 (VCM102)	100,00	3	2,58 A
T13 (CTM102)	100,00	3	2,58 A
T16 (CTM105)	100,00	3	2,58 A
T6 (VCM103)	100,00	3	2,58 A
T2 (VRM103)	100,00	3	2,58 A
T4 (VRM105)	98,33	3	2,58 A B
T15 (CTM104)	98,33	3	2,58 A B
T10 (KGM103)	98,33	3	2,58 A B
T14 (CTM103)	98,33	3	2,58 A B
T7 (VCM104)	96,67	3	2,58 A B
T3 (VRM104)	96,67	3	2,58 A B
T1 (VRM102)	96,67	3	2,58 A B
T9 (KGM102)	96,67	3	2,58 A B
T18 (Q-YARAVITA)	96,67	3	2,58 A B
T8 (VCM105)	95,00	3	2,58 A B
T12 (KGM105)	95,00	3	2,58 A B
T11 (KGM104)	93,33	3	2,58 A B
T17 (CONTROL-AD)	85,00	3	2,58 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Longitud radicular 7 días

Variable N R² R² Aj CV

LR (FR) 54 0,87 0,80 12,54

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	732,13	17	43,07	13,74	<0,0001
TRATAMIENTOS	732,13	17	43,07	13,74	<0,0001
Error	112,83	36	3,13		
Total	844,95	53			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,42102

Error: 3,1341 gl: 36

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T15 (CTM104)	19,33	3	1,02 A
T14 (CTM103)	18,17	3	1,02 A B
T16 (CTM105)	17,93	3	1,02 A B
T2 (VRM103)	15,97	3	1,02 A B
T8 (VCM105)	15,90	3	1,02 A B
T6 (VCM103)	15,87	3	1,02 A B
T13 (CTM102)	15,60	3	1,02 A B
T3 (VRM104)	15,27	3	1,02 A B
T10 (KGM103)	15,10	3	1,02 A B
T5 (VCM102)	14,73	3	1,02 A B
T11 (KGM104)	14,23	3	1,02 A B
T4 (VRM105)	13,77	3	1,02 B

T7 (VCM104)	13,57	3	1,02	B
T9 (KGM102)	12,97	3	1,02	B
T1 (VRM102)	12,90	3	1,02	B
T12 (KGM105)	12,90	3	1,02	B
T18 (Q-YARAVITA)	5,43	3	1,02	C
T17 (CONTROL-AD)	4,57	3	1,02	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Número de hojas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
FR No. Hojas	24	0,90	0,85	11,04

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	47,91	7	6,84	19,91	<0,0001
TRATAMIENTOS	47,91	7	6,84	19,91	<0,0001
Error	5,50	16	0,34		
Total	53,41	23			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,65738

Error: 0,3438 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T8 (CONTROL-AE)	8,00	3	0,34	A
T3 (KGM 105 X VRM 104)	6,50	3	0,34	A B
T1 (KGM 103 X CTM 102)	6,00	3	0,34	B C
T5 (VRM 105 X VCM 102)	5,00	3	0,34	B C
T6 (KGM 104 X VCM 104)	5,00	3	0,34	B C
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	4,50	3	0,34	C D
T4 (CTM 104 X VCM 105)	4,50	3	0,34	C D
T2 (KGM 102 X VRM 103)	3,00	3	0,34	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Longitud del tallo

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
FR LT	24	0,44	0,20	13,91

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	100,27	7	14,32	1,83	0,1499
TRATAMIENTOS	100,27	7	14,32	1,83	0,1499
Error	125,21	16	7,83		
Total	225,48	23			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=7,90798

Error: 7,8258 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T5 (VRM 105 X VCM 102)	22,67	3	1,62	A
T6 (KGM 104 X VCM 104)	22,17	3	1,62	A
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	21,05	3	1,62	A
T3 (KGM 105 X VRM 104)	20,67	3	1,62	A
T2 (KGM 102 X VRM 103)	20,42	3	1,62	A
T4 (CTM 104 X VCM 105)	20,00	3	1,62	A
T1 (KGM 103 X CTM 102)	17,70	3	1,62	A
T8 (CONTROL-AE)	16,17	3	1,62	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Largo de la planta

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
FR LP	24	0,79	0,69	16,44	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5830,86	7	832,98	8,35	0,0002
TRATAMIENTOS	5830,86	7	832,98	8,35	0,0002
Error	1595,82	16	99,74		
Total	7426,68	23			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=28,23135

Error: 99,7384 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T3 (KGM 105 X VRM 104)	84,75	3	5,77	A
T6 (KGM 104 X VCM 104)	84,67	3	5,77	A
T4 (CTM 104 X VCM 105)	70,00	3	5,77	A B
T8 (CONTROL-AE)	69,25	3	5,77	A B
T5 (VRM 105 X VCM 102)	67,67	3	5,77	A B
T1 (KGM 103 X CTM 102)	57,67	3	5,77	A B C
T2 (KGM 102 X VRM 103)	54,00	3	5,77	B C
T7 (QUÌMICO - YARAVITA)	34,30	3	5,77	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Longitud radicular

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
FR LR	24	0,81	0,73	15,12	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	391,46	7	55,92	10,07	0,0001
TRATAMIENTOS	391,46	7	55,92	10,07	0,0001
Error	88,87	16	5,55		
Total	480,33	23			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=6,66239

Error: 5,5547 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T6 (KGM 104 X VCM 104)	25,00	3	1,36	A
T5 (VRM 105 X VCM 102)	17,50	3	1,36	B
T3 (KGM 105 X VRM 104)	16,50	3	1,36	B
T2 (KGM 102 X VRM 103)	14,58	3	1,36	B
T8 (CONTROL-AE)	13,92	3	1,36	B
T7 (QUÌMICO - YARAVITA)	13,17	3	1,36	B
T4 (CTM 104 X VCM 105)	13,00	3	1,36	B
T1 (KGM 103 X CTM 102)	11,00	3	1,36	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Ancho de la hoja

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
FR AH	24	0,50	0,29	23,48	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	25,95	7	3,71	2,33	0,0768
TRATAMIENTOS	25,95	7	3,71	2,33	0,0768
Error	25,49	16	1,59		
Total	51,43	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,56792

Error: 1,5930 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	7,33	3	0,73 A
T3 (KGM 105 X VRM 104)	6,17	3	0,73 A
T6 (KGM 104 X VCM 104)	6,15	3	0,73 A
T2 (KGM 102 X VRM 103)	5,27	3	0,73 A
T8 (CONTROL-AE)	5,05	3	0,73 A
T4 (CTM 104 X VCM 105)	4,73	3	0,73 A
T1 (KGM 103 X CTM 102)	4,32	3	0,73 A
T5 (VRM 105 X VCM 102)	3,98	3	0,73 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Largo de la hoja**

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
FR LH	24	0,38	0,11	21,01	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	21,36	7	3,05	1,39	0,2745
TRATAMIENTOS	21,36	7	3,05	1,39	0,2745
Error	35,06	16	2,19		
Total	56,42	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,18460

Error: 2,1913 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T8 (CONTROL-AE)	8,15	3	0,85 A
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	7,92	3	0,85 A
T3 (KGM 105 X VRM 104)	7,77	3	0,85 A
T1 (KGM 103 X CTM 102)	7,75	3	0,85 A
T6 (KGM 104 X VCM 104)	7,10	3	0,85 A
T4 (CTM 104 X VCM 105)	6,13	3	0,85 A
T2 (KGM 102 X VRM 103)	5,95	3	0,85 A
T5 (VRM 105 X VCM 102)	5,60	3	0,85 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Diámetro del tallo**

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
FR DT	24	0,36	0,09	13,36	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,02	7	2,9E-03	1,31	0,3091
TRATAMIENTOS	0,02	7	2,9E-03	1,31	0,3091
Error	0,04	16	2,2E-03		
Total	0,06	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13221

Error: 0,0022 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T3 (KGM 105 X VRM 104)	0,40	3	0,03 A
T1 (KGM 103 X CTM 102)	0,38	3	0,03 A
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	0,35	3	0,03 A
T4 (CTM 104 X VCM 105)	0,35	3	0,03 A
T2 (KGM 102 X VRM 103)	0,35	3	0,03 A
T6 (KGM 104 X VCM 104)	0,33	3	0,03 A
T5 (VRM 105 X VCM 102)	0,33	3	0,03 A
T8 (CONTROL-AE)	0,30	3	0,03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 11A. Estadísticos descriptivos del análisis de la Varianza de las variables en fase in vitro y vivero de plántula de frijol mantequilla.

Porcentaje de germinación

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%G(FM)	54	0,84	0,77	5,20

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4270,37	17	251,20	11,30	<0,0001
TRATAMIENTOS	4270,37	17	251,20	11,30	<0,0001
Error	800,00	36	22,22		
Total	5070,37	53			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=14,43511

Error: 22,2222 gl: 36

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
T17 (CONTROL-AD)	100,00	3	2,72	A	
T18 (Q-YARAVITA)	98,33	3	2,72	A	
T2 (VRM103)	98,33	3	2,72	A	
T6 (VCM103)	98,33	3	2,72	A	
T10 (KGM103)	96,67	3	2,72	A	
T12 (KGM105)	96,67	3	2,72	A	
T14 (CTM103)	96,67	3	2,72	A	
T9 (KGM102)	96,67	3	2,72	A	
T16 (CTM105)	95,00	3	2,72	A	
T13 (CTM102)	95,00	3	2,72	A	
T8 (VCM105)	90,00	3	2,72	A	B
T3 (VRM104)	90,00	3	2,72	A	B
T15 (CTM104)	88,33	3	2,72	A	B
T1 (VRM102)	86,67	3	2,72	A	B
T7 (VCM104)	86,67	3	2,72	A	B
T11 (KGM104)	78,33	3	2,72	B	C
T5 (VCM102)	71,67	3	2,72		C
T4 (VRM105)	70,00	3	2,72		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Longitud radicular 7 días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LR(FM)	54	0,86	0,80	14,78

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	249,30	17	14,66	13,18	<0,0001
TRATAMIENTOS	249,30	17	14,66	13,18	<0,0001
Error	40,05	36	1,11		
Total	289,35	53			

Test: Tukey Alfa=0,05

DMS=3,22986

Error: 1,1125 gl: 36

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.					
T11 (KGM104)	10,27	3	0,61	A				
T12 (KGM105)	9,93	3	0,61	A				
T10 (KGM103)	9,74	3	0,61	A				
T16 (CTM105)	9,17	3	0,61	A	B			
T8 (VCM105)	9,00	3	0,61	A	B			
T6 (VCM103)	8,87	3	0,61	A	B	C		
T14 (CTM103)	8,20	3	0,61	A	B	C	D	
T5 (VCM102)	7,97	3	0,61	A	B	C	D	
T7 (VCM104)	7,60	3	0,61	A	B	C	D	
T9 (KGM102)	7,29	3	0,61	A	B	C	D	
T13 (CTM102)	6,43	3	0,61		B	C	D	E
T3 (VRM104)	5,97	3	0,61		B	C	D	E F
T4 (VRM105)	5,72	3	0,61		C	D	E	F

T2 (VRM103)	5,54	3	0,61	D	E	F
T15 (CTM104)	5,37	3	0,61	D	E	F
T17 (CONTROL-AD)	5,23	3	0,61	D	E	F
T18 (Q-YARAVITA)	3,30	3	0,61		E	F
T1 (VRM102)	2,87	3	0,61			F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Número de hojas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
FM No. Hojas	24	0,34	0,05	15,27

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,00	7	0,57	1,17	0,3735
TRATAMIENTOS	4,00	7	0,57	1,17	0,3735
Error	7,83	16	0,49		
Total	11,83	23			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,97794

Error: 0,4896 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	5,00 A
T6 (KGM 104 X VCM 104)	5,00 A
T1 (KGM 103 X CTM 102)	5,00 A
T2 (KGM 102 X VRM 103)	4,83 A
T4 (CTM 104 X VCM 105)	4,50 A
T3 (KGM 105 X VRM 104)	4,33 A
T5 (VRM 105 X VCM 102)	4,00 A
T8 (CONTROL-AE)	4,00 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Longitud del tallo

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
FM LT	24	0,61	0,44	14,02

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	189,73	7	27,10	3,59	0,0162
TRATAMIENTOS	189,73	7	27,10	3,59	0,0162
Error	120,75	16	7,55		
Total	310,48	23			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=7,76576

Error: 7,5469 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T2 (KGM 102 X VRM 103)	24,83	3	1,59 A
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	22,33	3	1,59 A B
T1 (KGM 103 X CTM 102)	21,33	3	1,59 A B
T3 (KGM 105 X VRM 104)	18,75	3	1,59 A B
T5 (VRM 105 X VCM 102)	18,50	3	1,59 A B
T6 (KGM 104 X VCM 104)	18,17	3	1,59 A B
T8 (CONTROL-AE)	17,17	3	1,59 A B
T4 (CTM 104 X VCM 105)	15,67	3	1,59 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Largo de la planta

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
FM LP	24	0,81	0,72	9,60	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1082,22	7	154,60	9,46	0,0001
TRATAMIENTOS	1082,22	7	154,60	9,46	0,0001
Error	261,56	16	16,35		
Total	1343,78	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=11,42940

Error: 16,3473 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T6 (KGM 104 X VCM 104)	50,50	3	2,33 A
T4 (CTM 104 X VCM 105)	49,58	3	2,33 A
T5 (VRM 105 X VCM 102)	47,17	3	2,33 A
T3 (KGM 105 X VRM 104)	45,78	3	2,33 A B
T2 (KGM 102 X VRM 103)	41,67	3	2,33 A B C
T1 (KGM 103 X CTM 102)	34,67	3	2,33 B C
T8 (CONTROL-AE)	33,92	3	2,33 C
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	33,58	3	2,33 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Longitud radicular

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
FM LR	24	0,50	0,28	18,08	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	101,46	7	14,49	2,30	0,0791
TRATAMIENTOS	101,46	7	14,49	2,30	0,0791
Error	100,67	16	6,29		
Total	202,13	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,09060

Error: 6,2917 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T4 (CTM 104 X VCM 105)	16,92	3	1,45 A
T3 (KGM 105 X VRM 104)	15,58	3	1,45 A
T5 (VRM 105 X VCM 102)	15,33	3	1,45 A
T8 (CONTROL-AE)	14,75	3	1,45 A
T6 (KGM 104 X VCM 104)	14,17	3	1,45 A
T1 (KGM 103 X CTM 102)	12,00	3	1,45 A
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	11,25	3	1,45 A
T2 (KGM 102 X VRM 103)	11,00	3	1,45 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Ancho de la hoja

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
FM AH	24	0,68	0,54	16,16	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	38,84	7	5,55	4,86	0,0042
TRATAMIENTOS	38,84	7	5,55	4,86	0,0042
Error	18,26	16	1,14		
Total	57,09	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,01947

Error: 1,1409 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
T7 (QUÌMICO - YARAVITA)	9,00	3	0,62	A	
T1 (KGM 103 X CTM 102)	7,73	3	0,62	A	B
T2 (KGM 102 X VRM 103)	7,67	3	0,62	A	B
T6 (KGM 104 X VCM 104)	6,37	3	0,62	A	B
T8 (CONTROL-AE)	5,70	3	0,62		B
T3 (KGM 105 X VRM 104)	5,63	3	0,62		B
T5 (VRM 105 X VCM 102)	5,43	3	0,62		B
T4 (CTM 104 X VCM 105)	5,33	3	0,62		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Largo de la hoja**

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
FM LH	24	0,72	0,60	18,37	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	75,75	7	10,82	5,91	0,0016
TRATAMIENTOS	75,75	7	10,82	5,91	0,0016
Error	29,31	16	1,83		
Total	105,06	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,82570

Error: 1,8316 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
T2 (KGM 102 X VRM 103)	11,25	3	0,78	A	
T7 (QUÌMICO - YARAVITA)	8,42	3	0,78	A	B
T1 (KGM 103 X CTM 102)	7,97	3	0,78	A	B
T6 (KGM 104 X VCM 104)	7,38	3	0,78		B
T8 (CONTROL-AE)	6,58	3	0,78		B
T5 (VRM 105 X VCM 102)	6,37	3	0,78		B
T3 (KGM 105 X VRM 104)	5,50	3	0,78		B
T4 (CTM 104 X VCM 105)	5,47	3	0,78		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Diaméto del tallo**

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
FM DT	24	0,46	0,23	12,06	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,03	7	3,9E-03	1,98	0,1226
TRATAMIENTOS	0,03	7	3,9E-03	1,98	0,1226
Error	0,03	16	2,0E-03		
Total	0,06	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,12576

Error: 0,0020 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
T1 (KGM 103 X CTM 102)	0,42	3	0,03	A	
T7 (QUÌMICO - YARAVITA)	0,40	3	0,03	A	
T4 (CTM 104 X VCM 105)	0,38	3	0,03	A	
T2 (KGM 102 X VRM 103)	0,38	3	0,03	A	
T5 (VRM 105 X VCM 102)	0,37	3	0,03	A	
T6 (KGM 104 X VCM 104)	0,35	3	0,03	A	
T3 (KGM 105 X VRM 104)	0,35	3	0,03	A	
T8 (CONTROL-AE)	0,30	3	0,03	A	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 12A. Estadísticos descriptivos del análisis de la Varianza de las variables en fase in vitro y vivero de plántula de frijolillo

Porcentaje de germinación

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%G(Fr)1	54	0,50	0,27	18,51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3531,48	17	207,73	2,15	0,0267
TRATAMIENTOS	3531,48	17	207,73	2,15	0,0267
Error	3483,33	36	96,76		
Total	7014,81	53			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=30,12122

Error: 96,7593 gl: 36

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T1 (VRM102)	68,33	3	5,68	A
T3 (VRM104)	63,33	3	5,68	A B
T12 (KGM105)	61,67	3	5,68	A B
T2 (VRM103)	61,67	3	5,68	A B
T5 (VCM102)	56,67	3	5,68	A B
T4 (VRM105)	55,00	3	5,68	A B
T15 (CTM104)	55,00	3	5,68	A B
T14 (CTM103)	55,00	3	5,68	A B
T8 (VCM105)	53,33	3	5,68	A B
T11 (KGM104)	53,33	3	5,68	A B
T7 (VCM104)	53,33	3	5,68	A B
T16 (CTM105)	53,33	3	5,68	A B
T9 (KGM102)	53,33	3	5,68	A B
T13 (CTM102)	50,00	3	5,68	A B
T18 (Q-YARAVITA)	45,00	3	5,68	A B
T10 (KGM103)	43,33	3	5,68	A B
T6 (VCM103)	40,00	3	5,68	A B
T17 (CONTROL-AD)	35,00	3	5,68	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Longitud radicular (7 días)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LR(Fr)1	54	0,60	0,41	21,97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,03	17	0,35	3,19	0,0017
TRATAMIENTOS	6,03	17	0,35	3,19	0,0017
Error	4,01	36	0,11		
Total	10,04	53			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,02157

Error: 0,1113 gl: 36

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T1 (VRM102)	2,20	3	0,19	A
T5 (VCM102)	1,87	3	0,19	A B
T2 (VRM103)	1,80	3	0,19	A B C
T4 (VRM105)	1,77	3	0,19	A B C
T14 (CTM103)	1,70	3	0,19	A B C
T11 (KGM104)	1,67	3	0,19	A B C
T3 (VRM104)	1,67	3	0,19	A B C
T8 (VCM105)	1,57	3	0,19	A B C
T13 (CTM102)	1,57	3	0,19	A B C
T12 (KGM105)	1,57	3	0,19	A B C

T15 (CTM104)	1,53	3	0,19	A	B	C
T7 (VCM104)	1,53	3	0,19	A	B	C
T10 (KGM103)	1,50	3	0,19	A	B	C
T16 (CTM105)	1,37	3	0,19	A	B	C
T9 (KGM102)	1,27	3	0,19	A	B	C
T6 (VCM103)	1,10	3	0,19		B	C
T18 (Q-YARAVITA)	0,83	3	0,19			C
T17 (CONTROL-AD)	0,83	3	0,19			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Número de hojas

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Fj No. Hojas	24	0,32	0,03	8,93	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,24	7	0,03	1,10	0,4113
TRATAMIENTOS	0,24	7	0,03	1,10	0,4113
Error	0,50	16	0,03		
Total	0,74	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,49972

Error: 0,0313 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T1 (KGM 103 X CTM 102)	2,17	3	0,10 A
T5 (VRM 105 X VCM 102)	2,00	3	0,10 A
T6 (KGM 104 X VCM 104)	2,00	3	0,10 A
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	2,00	3	0,10 A
T3 (KGM 105 X VRM 104)	2,00	3	0,10 A
T4 (CTM 104 X VCM 105)	2,00	3	0,10 A
T8 (CONTROL-AE)	1,83	3	0,10 A
T2 (KGM 102 X VRM 103)	1,83	3	0,10 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Longitud del tallo

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Fj LT	24	0,59	0,41	12,83	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	18,33	7	2,62	3,29	0,0231
TRATAMIENTOS	18,33	7	2,62	3,29	0,0231
Error	12,75	16	0,80		
Total	31,08	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,52345

Error: 0,7969 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T8 (CONTROL-AE)	8,42		A
T5 (VRM 105 X VCM 102)	7,42		A B
T1 (KGM 103 X CTM 102)	7,42		A B
T6 (KGM 104 X VCM 104)	7,08		A B
T2 (KGM 102 X VRM 103)	7,00		A B
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	6,75		A B
T3 (KGM 105 X VRM 104)	6,42		A B
T4 (CTM 104 X VCM 105)	5,17		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Largo de la planta

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Fj LP	24	0,85	0,78	8,14	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	91,76	7	13,11	12,97	<0,0001
TRATAMIENTOS	91,76	7	13,11	12,97	<0,0001
Error	16,18	16	1,01		
Total	107,94	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,84240

Error: 1,0110 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.				
T5 (VRM 105 X VCM 102)	15,03	3	0,58	A			
T6 (KGM 104 X VCM 104)	14,25	3	0,58	A	B		
T8 (CONTROL-AE)	14,17	3	0,58	A	B		
T1 (KGM 103 X CTM 102)	13,00	3	0,58	A	B	C	
T2 (KGM 102 X VRM 103)	11,42	3	0,58		B	C	D
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	11,17	3	0,58			C	D
T3 (KGM 105 X VRM 104)	10,75	3	0,58			C	D
T4 (CTM 104 X VCM 105)	9,00	3	0,58				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Longitud radicular

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Fj LR	24	0,85	0,79	15,19	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	35,87	7	5,12	13,12	<0,0001
TRATAMIENTOS	35,87	7	5,12	13,12	<0,0001
Error	6,25	16	0,39		
Total	42,12	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,76677

Error: 0,3906 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.				
T5 (VRM 105 X VCM 102)	6,33	3	0,36	A			
T8 (CONTROL-AE)	5,42	3	0,36	A	B		
T6 (KGM 104 X VCM 104)	5,00	3	0,36	A	B	C	
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	3,92	3	0,36		B	C	D
T2 (KGM 102 X VRM 103)	3,25	3	0,36			C	D
T1 (KGM 103 X CTM 102)	3,17	3	0,36				D
T4 (CTM 104 X VCM 105)	2,92	3	0,36				D
T3 (KGM 105 X VRM 104)	2,92	3	0,36				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Ancho de la Hoja

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Fj AH	24	0,82	0,74	27,87	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,01	7	0,86	10,29	0,0001
TRATAMIENTOS	6,01	7	0,86	10,29	0,0001
Error	1,34	16	0,08		
Total	7,35	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,81667

Error: 0,0835 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	2,20	3	0,17	A
T8 (CONTROL-AE)	1,18	3	0,17	B
T2 (KGM 102 X VRM 103)	1,14	3	0,17	B
T1 (KGM 103 X CTM 102)	1,12	3	0,17	B
T5 (VRM 105 X VCM 102)	0,78	3	0,17	B
T6 (KGM 104 X VCM 104)	0,77	3	0,17	B
T3 (KGM 105 X VRM 104)	0,57	3	0,17	B
T4 (CTM 104 X VCM 105)	0,53	3	0,17	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Largo de la hoja

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Fj LH	24	0,72	0,59	15,21	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,49	7	0,36	5,74	0,0019
TRATAMIENTOS	2,49	7	0,36	5,74	0,0019
Error	0,99	16	0,06		
Total	3,49	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,70464

Error: 0,0621 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T2 (KGM 102 X VRM 103)	2,41	3	0,14	A
T3 (KGM 105 X VRM 104)	1,67	3	0,14	B
T1 (KGM 103 X CTM 102)	1,65	3	0,14	B
T5 (VRM 105 X VCM 102)	1,62	3	0,14	B
T6 (KGM 104 X VCM 104)	1,62	3	0,14	B
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	1,47	3	0,14	B
T8 (CONTROL-AE)	1,47	3	0,14	B
T4 (CTM 104 X VCM 105)	1,22	3	0,14	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Diámetro del tallo

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Fj DT	24	1,00	1,00	3,0E-06	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,06	7	0,01	3786298769564150,00	<0,0001
TRATAMIENTOS	0,06	7	0,01		sd sd
Error	0,00	16	0,00		
Total	0,06	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00000

Error: 0,0000 gl: 16

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T3 (KGM 105 X VRM 104)	0,10	3	0,00	A
T5 (VRM 105 X VCM 102)	0,10	3	0,00	A
T6 (KGM 104 X VCM 104)	0,10	3	0,00	A
T4 (CTM 104 X VCM 105)	0,10	3	0,00	A
T8 (CONTROL-AE)	0,00	3	0,00	B
T1 (KGM 103 X CTM 102)	0,00	3	0,00	B
T2 (KGM 102 X VRM 103)	0,00	3	0,00	B
T7 (QUÍMICO - YARAVITA)	0,00	3	0,00	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)