



**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 COMUNA COLONCHE, 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:** Erika Dayana Orrala Tomalá

**LA LIBERTAD, NOVIEMBRE 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 COMUNA COLONCHE, 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:** Erika Dayana Orrala Tomalá

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

**LA LIBERTAD, 2024**

## TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **ERIKA DAYANA ORRALA TOMALÀ** como requisito parcial para la obtención del grado de Ingeniero/a Agropecuario de la Carrera de Agropecuaria.

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



Firmado electrónicamente por:  
**LOURDES HILDA  
ORTEGA MALDONADO**

---

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

---

Ing. Lourdes Ortega Maldonado, MsC  
**PROFESORA ESPECIALISTA  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



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

---

Blgo. Javier Soto Valenzuela, Ph.D.  
**PROFESORA TUTORA  
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**

Este trabajo fue realizado con mucho esfuerzo y dedicación, así mismo fue posible gracias a todas las personas que estuvieron conmigo desde que inicié mi proceso de formación académica profesional.

En primer lugar, quiero darle gracias a Dios por darme la sabiduría y entendimiento, por la fortaleza que me dio en cada proceso de mi carrera. A mis padres Diana Tomalá Suarez y Víctor Orrala Alejandro por creer en mí, por ser ese pilar fundamental para no rendirme a lo largo de este tiempo, gracias por su apoyo y por motivarme a culminar mi carrera universitaria. También a mis hermanos Henry, Kimberly y Joyce, por brindarme su apoyo moral en esas noches que toco investigar y por no dejarme caer cuando quería rendirme gracias por todo sus consejos este logro también es por ustedes hermanos.

Extiendo mis más sinceros agradecimientos por la dedicación, el tiempo, las enseñanzas impartidas, la orientación brindada y la aclaración de muchas dudas que surgieron durante mi investigación experimental a mi tutor, Blgo Javier Soto Valenzuela por como docente creyó en mí, motivándome a cada día aprender y hacer las cosas bien durante la investigación, las risas y los consejos nunca faltaron siempre que llegaba al laboratorio tenía una palabra de aliento a cada uno de sus tesistas.

A mis compañeros y futuros colegas: Narcisa, Adrián, Maybbe, Nohelia y Anthony quienes me brindaron su apoyo incondicionalmente en este proceso, por el apoyo y compañía en cada momento

Asimismo, a mi enamorado Jonathan Suarez que también fue parte de este proceso, donde ha sabido entenderme y dejarme desarrollar académicamente, por sus consejos y motivándome con su frase “Tú puedes, no te rindas” y siempre ha estado allí apoyándome cuando lo he necesitado, te lo agradezco mucho y gracias por ser parte de este camino.

Culmino con gran satisfacción mi investigación, un logro que no hubiera sido posible sin el apoyo de la Universidad Estatal Península de Santa Elena. Agradezco profundamente a los docentes por la guía, dedicación y a toda la institución por haberme abierto las puertas al conocimiento y desarrollo personal.

***Erika Dayana Orrala Tomalá***

## **DEDICATORIA**

A Dios, por brindarme fortaleza, sabiduría y entendimiento.

Dedico este trabajo de titulación a mis padres Diana Tomalá Suarez y Víctor Orrala Alejandro, a lo largo de mi vida y mi educación, ustedes han sido mi guía, mi apoyo y mi mayor inspiración.

Este trabajo de titulación no es un solo logro personal, sino también el reflejo del sacrificio, amor y dedicación que han invertido en mi educación. Cada paso que eh dado en este camino ha sido posible gracias a su constante aliento, su confianza en mí y su sacrificio silencioso. Sus palabras de ánimos y presencia han sido mi fortaleza en los momentos de desafíos.

Dedico este trabajo a mis hermanos, Henry, Kimberly y Joyce, hoy con profunda gratitud y amor, que este logro sea también suyo, pues en página escrita lleva impregnada su sabiduría, apoyo y amor que me han brindado como hermanos.

También dedico este trabajo a mi enamorado Jonathan Suarez que fue mi apoyo a lo largo de este exigente camino. Tu paciencia, comprensión y amor inquebrantable han sido fundamentales para mantenerme enfocada y motivada durante largas horas de estudio y dedicación. Tu constante apoyo han sido el impulso que necesitaba para superar cada obstáculo y alcanzar mis metas académicas.

Por último, a todos me llevo un grato recuerdo y finalmente ahora si puedo decirles colegas.

## **RESUMEN**

En el presente trabajo de investigación se enfoca en la caracterización de once cepas de bacterianas obtenidas de la rizosfera de los cultivos vegetales (Café y pastos Tanzania, King Grass) del Centro de Apoyo Colonche (UPSE), provincia de Santa Elena, para su recomendación como PGPR. Las PGPR son bacterias que interactúan con las raíces de las plantas promoviendo su crecimiento a través de diversos mecanismos como la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos, la producción de fitohormonas y la mejora en la absorción de nutrientes. Este estudio tuvo como objetivo principal evaluar rizobacterias mediante varias pruebas como catalasa, tinción Gram, capacidad de variar el pH del medio, crecimiento en diferentes niveles de pH, crecimiento de bacterias en salinidad en tres concentraciones diferentes y prueba antibiograma. Se emplearon técnicas microbiológicas para el aislamiento de bacterias, así como pruebas fisiológicas, bioquímicas y screening biológico para evaluar la eficiencia de las cepas en tres cultivos de leguminosas. Los resultados obtenidos mostraron al menos cuatro cepas bacterianas con potencial promotor de crecimiento vegetal a nivel in vitro y in vivo.

Palabras claves: Rizobacterias, rizosfera, café, pastos, PGPR

## **ABSTRACT**

The present research work focuses on the characterization of eleven bacterial strains obtained from the rhizosphere of vegetable crops (coffee and Tanzania, King Grass) of the Colonche Support Center (UPSE), Santa Elena province, for their recommendation as PGPR. PGPR are bacteria that interact with plant roots promoting their growth through various mechanisms such as nitrogen fixation, phosphate solubilization, phytohormone production and improved nutrient absorption. The main objective of this study was to evaluate rhizobacteria by means of several tests such as catalase, Gram staining, capacity to vary the pH of the medium, growth at different pH levels, growth of bacteria in salinity at three different concentrations and antibiogram test. Microbiological techniques were used for bacterial isolation, as well as physiological, biochemical and biological screening tests to evaluate the efficiency of the strains in three legume cultures.

The results obtained showed at least four bacterial strains with potential for plant growth promotion at the in vitro and nursery levels.

**Keywords:** Rhizobacteria, rhizosphere, coffee, grasses, PGPR

## 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 COMUNA COLONCHE, PROVINCIA DE SANTA ELENA**” y elaborado por **Erika Dayana Orrala Tomalà**, 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

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>Problema Científico</b> .....	<b>2</b>
<b>Justificación</b> .....	<b>2</b>
<b>Objetivos</b> .....	<b>2</b>
Objetivo General .....	2
Objetivos Específicos .....	2
<b>Hipótesis</b> .....	<b>2</b>
<b>CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1 Microbiotas presentes en suelos rizosféricos</b> .....	<b>3</b>
<b>1.2 Características de cepas PGPR</b> .....	<b>4</b>
<b>1.3 Característica de bacterias de tipo PGPR</b> .....	<b>5</b>
<b>1.4 Pruebas Fisiológicas</b> .....	<b>6</b>
1.4.1 Salinidad .....	6
1.4.2 Crecimiento de bacterias con diferentes niveles de pH .....	6
1.4.3 Antibiograma .....	6
<b>1.5 Pruebas Bioquímicas</b> .....	<b>7</b>
1.5.1 Tinción de Gram .....	7
1.5.2 Catalasa .....	8
<b>1.6 Screening biológico</b> .....	<b>8</b>
1.6.1 Mecanismos implicados en la actividad PGPR .....	8
<b>1.7 Definición e importancia de leguminosas</b> .....	<b>9</b>
<b>1.8 Frijol Rojo (<i>Phaseolus vulgaris</i>)</b> .....	<b>9</b>
<b>1.9 Frijol Mantequilla (<i>Phaseolus lunatus</i>)</b> .....	<b>9</b>
<b>1.10 Frijolillo Silvestre (<i>Centrosema virginianum</i>)</b> .....	<b>10</b>
<b>CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>11</b>
<b>2.1 Caracterización del área</b> .....	<b>11</b>
<b>2.2 Materiales, equipos y reactivos</b> .....	<b>11</b>
2.2.1 Material biológico .....	11
2.2.2 Material de laboratorio.....	11
2.2.3 Equipos de laboratorio .....	12
2.2.4 Reactivos para medios de cultivo .....	12
<b>2.3 Tipo de investigación</b> .....	<b>12</b>

<b>2.4</b>	<b>Diseño de investigación</b> .....	<b>13</b>
2.4.1	Diseño experimental .....	13
<b>2.5</b>	<b>Manejo del experimento</b> .....	<b>14</b>
2.5.1	Esterilización de materiales .....	14
2.5.2	Procedimiento de medios de cultivos .....	14
2.5.3	Pruebas bioquímicas.....	14
2.5.4	Pruebas Fisiológicas .....	14
2.5.5	Reactivación de aislados bacterianos.....	15
2.5.6	Desinfección y germinación de semillas.....	15
<b>2.6</b>	<b>Inoculación bacteriana en cultivos vegetales (vivero)</b> .....	<b>16</b>
2.6.1	Riego.....	16
2.6.2	Raleo.....	16
<b>2.7</b>	<b>Parámetros evaluados</b> .....	<b>16</b>
2.7.1	Fisiológicos y Bioquímicos de las bacterias.....	16
2.7.2	Variables agronómicas (In Vitro) .....	18
2.7.3	Variables Agronómicas Vivero 15 DDT .....	18
<b>2.8</b>	<b>Análisis estadístico de los resultados</b> .....	<b>19</b>
<b>CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....		<b>20</b>
<b>3.1</b>	<b>Caracterización bioquímica de posibles cepas bacterianas PGPR.</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2</b>	<b>Caracterizaciones fisiológicas de cepas bacterianas posibles PGPR</b> .....	<b>22</b>
3.2.1	Efecto de la salinidad en el crecimiento de las bacterias .....	22
<b>3.3</b>	<b>Efectos del pH en el crecimiento de cepas bacterianas</b> .....	<b>23</b>
3.3.1	Evaluación de sensibilidad o resistencia de bacterias PGPR a antibióticos .....	25
<b>3.4</b>	<b>Screening biológico en tres cultivos vegetales</b> .....	<b>26</b>
3.4.1	Germinación <i>In vitro</i> .....	26
3.4.2	Porcentaje de germinación en leguminosas .....	26
3.4.3	Longitud radicular a los 7 días .....	27
<b>3.5</b>	<b>Parámetros de crecimiento evaluados a los 15 DDT</b> .....	<b>28</b>
<b>3.6</b>	<b>Resumen de las variables</b> .....	<b>31</b>
<b>3.7</b>	<b>Análisis clúster de pruebas realizadas en cepas asiladas tipo PGPR</b> .....	<b>31</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....		<b>34</b>
<b>Conclusiones</b> .....		<b>34</b>
<b>Recomendaciones</b> .....		<b>34</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....		<b>35</b>
<b>ANEXOS</b> .....		<b>40</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Descripción de los tratamientos en fase de vivero de los aislados bacterianos.....	13
<b>Tabla 2.</b> Rangos para evaluar el crecimiento del viraje del medio .....	17
<b>Tabla 3.</b> Rangos para evaluar el crecimiento a distintos niveles de pH de las cepas aisladas.....	17
<b>Tabla 4.</b> Rangos para evaluar el crecimiento a diferentes niveles de NaCl de las cepas aisladas.....	17
<b>Tabla 5.</b> Caracterización bioquímica de cepas las cepas estudiadas. ....	20
<b>Tabla 6.</b> Reacción de las cepas en medio LMA-Azul de bromotimol. ....	21
<b>Tabla 7.</b> Crecimiento de las cepas bacterianas a diferentes concentraciones de salinidad .....	22
<b>Tabla 8.</b> Crecimiento de las cepas bacterianas a distintos niveles de Ph.....	24
<b>Tabla 9.</b> Sensibilidad y Resistencia a tres antibióticos.....	25
<b>Tabla 10.</b> Efecto de la inoculación de las posibles cepas PGPR en la germinación, a los 7 días. ....	26
<b>Tabla 11.</b> Efecto de la inoculación de las bacterias en la longitud radicular evaluado a los 7 días. 27	
<b>Tabla 12.</b> Resumen de promedios de las variables morfológicas de las cepas bacterianas estudiadas en los tres cultivos inoculados .....	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Capacidad de viraje del medio LMA-ABT.....	21
<b>Figura 2.</b> Crecimiento de bacterias aisladas a los diferentes niveles de salinidad evaluados. ....	23
<b>Figura 3.</b> Crecimiento de bacterias aisladas a distintos niveles de pH.....	24
<b>Figura 4.</b> Crecimiento de la longitud de la raíz de semillas inoculadas con posibles cepas PGPR. ...	28
<b>Figura 5.</b> Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, cultivos vegetales (Phaseolus vulgaris, Phaseolus coccineus y Centrosoma virginianum) evaluando parámetros morfológicos. 30	
<b>Figura 6.</b> Análisis clúster realizado en las pruebas fisiológicas de las 11 cepas bacterianas estudiadas. ....	32
<b>Figura 7.</b> Análisis de Clúster del efecto de las cepas en el crecimiento de cultivos leguminosas .....	33

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1A.</b> Prueba tinción de Gram .....	40
<b>Anexo 2A.</b> Prueba de catalasa. ....	40
<b>Anexo 3A.</b> Prueba de Antibiograma. ....	40
<b>Anexo 4A.</b> Siembra de las cepas para variar el pH en azul de Bromotimol. ....	40
<b>Anexo 5A.</b> Inoculación de las cepas a las semillas. ....	40
<b>Anexo 6A.</b> Preparación del mix de las cepas. ....	40
<b>Anexo 7A.</b> Respuesta de las bacterias a la prueba de tinción de Gram .....	41
<b>Anexo 8A.</b> Reacción a la prueba de catalasa.....	41
<b>Anexo 9A.</b> Reacción de las cepas a los tres diferentes niveles de salinidad .....	41
<b>Anexo 10A.</b> Respuesta de las cepas a diferentes niveles de pH .....	41
<b>Anexo 11A.</b> Respuesta de las bacterias a la prueba antimic o antibiograma. ....	41
<b>Anexo 12A.</b> Reacción de las cepas bacterianas a la prueba viraje del pH en azul de Bromotimol. 41	
<b>Anexo 13A.</b> Efecto de la inoculación de cepas bacterianas en el crecimiento de plántulas de frijol rojo.....	42
<b>Anexo 14A.</b> Efecto de la inoculación de cepas bacterianas en el crecimiento de plántulas de frijol mantequilla. ....	42
<b>Anexo 15A.</b> Efecto de la inoculación de cepas bacterianas en el crecimiento de plántulas de frijolillo.....	43
<b>Anexo 16A.</b> Descripción del análisis de la varianza en el cultivo de frijol rojo .....	44
<b>Anexo 17A.</b> Descripción del análisis de la varianza en el cultivo de frijol mantequilla .....	44
<b>Anexo 18A.</b> Descripción del análisis de la varianza en el cultivo de frijolillo .....	44
<b>Anexo 19A.</b> Crecimiento de los tratamientos del frijol rojo.....	44
<b>Anexo 20.</b> Crecimiento de los tratamientos del frijol mantequilla.....	44
<b>Anexo 21.</b> Crecimiento de los tratamientos del frijolillo.....	44

## INTRODUCCIÓN

El término bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR, Plant Growth-Promoting Rhizobacteria), fue introducido por Kloepper y Schroth (1978) para referirse a aquellas comunidades bacterianas del suelo capaces de colonizar diferentes órganos de las plantas y generar efectos benéficos, donde destacan mecanismos de promoción de crecimiento propios de las bacterias, como la producción de fitohormonas, solubilización de compuestos fosfóricos y fijación de nitrógeno atmosférico; así como otros efectos indirectos como el control biológico con lo cual se puede abrir una opción alternativa ecológica y reducir los costos de producción en los cultivos.

La aplicación de bacterias PGPR es una alternativa al uso de fertilizantes de compuestos químicos que generan gran concentración de residuos tóxicos en el suelo. Esta alternativa busca reducir el impacto económico que tiene la aplicación de altas cantidades de fertilizantes químicos, y que, a su vez causan daño al suelo; principalmente en cultivos vegetales de importancia económica para el país. Los géneros *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Clostridium*, *Burkholderia*, *Acetobacter*, *Enterobacter*, entre otros, se encuentran asociados a la familia Enterobacteriaceae (Pagliero et al., 2008).

Para su identificación en el laboratorio, se usan medios de cultivo específicos que permiten el crecimiento selectivo de estas bacterias y ayudan a observar sus características, como la producción de enzimas o la capacidad de fijar nutrientes. Cada tipo de medio de cultivo está diseñado para facilitar el estudio de un aspecto particular de las bacterias PGPR, permitiendo aislarlas y caracterizarlas en función de su efecto benéfico sobre las plantas (Solmeglas, 2023).

La importancia de este estudio radica en su potencial para transformar las prácticas agrícolas en la comuna Colonche, así como en otras áreas de la provincia de Santa Elena, mediante el uso de microorganismos benéficos nativos. Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) que se caracterizan en esta investigación ya que pueden ofrecer soluciones sostenibles a problemas comunes con la agricultura como el bajo rendimiento de cultivos, la degradación del suelo y la dependencia de fertilizantes químicos que son perjudiciales para el medio ambiente.

## **Problema Científico**

¿Se puede identificar como PGPR a las cepas específicas de rizobacterias que demuestren resistencia o adaptabilidad a condiciones variables, así como su capacidad para mejorar el desarrollo de tres cultivos vegetales en condiciones controladas?

## **Justificación**

Mediante el estudio del crecimiento de estas bacterias bajo diversas condiciones fisiológicas y bioquímicas, el presente trabajo explora la adaptabilidad y potencial de las cepas PGPR en diferentes entornos, al evaluar el impacto de estos microorganismos en la germinación y crecimiento inicial de los cultivos permite no solo entender su efecto positivo, sino también seleccionar cepas prometedoras que demuestren el mayor beneficio para las plantas en condiciones controladas.

A corto plazo, esta investigación proporciona una base sólida para identificar las cepas bacterianas más efectivas, mientras que a largo plazo ofrece un recurso biotecnológico sostenible que puede ser implementado por los agricultores locales, mejorando la productividad agrícola de la región Colonche de forma económica y ecológica.

## **Objetivos**

### **Objetivo General:**

- ❖ Caracterizar once cepas bacterianas de tipo PGPR aisladas de la rizosfera de tres cultivos vegetales de la comuna Colonche, 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. Evaluar el comportamiento de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal en la germinación y crecimiento radicular en tres cultivos bajo condiciones controladas.
3. Sugerir las mejores cepas con características tipo PGPR, obtenidas de los resultados de las pruebas fisiológicas y bioquímicas.

## **Hipótesis**

Se espera que varias cepas rizobacterianas aisladas de los cultivos de Café, Tanzania y King Grass, demuestren respuestas significativas en su capacidad de crecimiento en diferentes condiciones fisiológicas y bioquímicas in vitro; así como en la promoción de crecimiento en las plantas.

# **CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## **1.1 Microbiotas presentes en suelos rizosféricos.**

(Apaza, 2017) menciona que, la comunidad microbiana del suelo, llamada también microbiota, conformada principalmente por bacterias y hongos, juega un papel importante en la fertilidad de este, pues se asocia a procesos reguladores del reciclaje de nutrientes (mineralización, desnitrificación, fijación de  $N_2$ , entre otros) y a la descomposición de residuos orgánicos.

Esta actividad se encuentra concentrada en la parte superior del suelo, desde la superficie hasta unos 30 cm de profundidad, 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 (Benavides et al., 2020).

La diversidad filogenética y funcional de las bacterias asociadas a la rizosfera de las plantas es extremadamente compleja, y su estudio nos brinda un mejor entendimiento de los procesos ecológicos y de las especies que conforman el suelo, además de que provee una explicación sobre la discrepancia ocasionalmente observada entre las caracterizaciones in vitro del potencial de las bacterias conocidas como rizobacterias promotoras del crecimiento en la plantas (PGPR) y los resultados en campo o invernadero (Pardo et al., 2009).

No obstante, ciertos géneros y especies microbianos tradicionalmente se han asociado a un efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas. Un caso particularmente relevante es el de las bacterias con capacidad para formar nódulos con plantas leguminosas, bacterias que se encuentran principalmente, pero no de manera exclusiva, en el orden Rhizobiales del filo Proteobacteria y se conocen globalmente como rizobios (Peralta and Gonzalez, 2009).

Estos rizobios, al poseer los mecanismos moleculares requeridos para el establecimiento de una relación simbiótica con leguminosas, en la mayoría de los casos van a tener un efecto benéfico sobre el crecimiento vegetal. 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 et al., 2018).



## 1.2 Características de cepas PGPR.

Las PGPR son microorganismos en contacto con la raíz y generan beneficios en el crecimiento de las plantas, con grandes ventajas agrícolas que inducen a las plantas a defenderse y que también confieren efectos beneficiosos como: aumento del crecimiento de las plantas 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 como PGPR, también denominadas bacterias benéficas de raíces (BBR), 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 (Pagliero et al., 2008)..

En la actualidad se está estudiando el empleo de inoculaciones con bacterias fijadoras de nitrógeno y otras PGPRs, la evaluación de la interacción entre los microorganismos y la planta, los efectos concretos sobre la promoción del crecimiento de la planta. 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).

### 1.3 Característica de bacterias de tipo PGPR

Velasco-Jiménez et al. (2020) plantean que, 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, géneros como:

*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.

El efecto de su inoculación sobre pastos, cereales y legumbres ha sido mostrado en gran nivel. El género *Azospirillum* consta de 15 especies fijadoras de nitrógeno y una no fijadora.

*Azotobacter*: El género *Azotobacter* está conformado 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* y que le permite soportar condiciones adversas, como la desecación.

*Bacillus*: Este género forma parte del filo *Firmicutes* y consta de bacterias que tiñen positivo en la coloración de Gram. Además, es fenotípicamente diverso, pues sus células pueden ser bastones o filamentos esféricos, rectos, curvos o helicoidales, con o sin flagelos y con o sin endosporas resistentes al calor. Igualmente son aerobios, anaerobios facultativos o estrictos. Algunos miembros del género *Bacillus* son termófilos o halófilos

Este género incluye más de 200 diferentes especies, y por ello una descripción global de las propiedades de sus genomas no es conveniente.

*Enterobacter*: El género *Enterobacter* pertenece a la familia Enterobacteriácea 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, quimio-heterotróficas, móviles con forma de bacillo, pertenecientes a la clase gamma proteobacteria y a la familia *Pseudomonadaceae* que contiene aproximadamente 191 diferentes especies, debido a su versatilidad metabólica y plasticidad genética, son ubicuas en los diferentes ecosistemas terrestres y acuáticos. Actualmente, el género tiene relevancia en el ámbito agrícola porque ejercen estas bacterias la promoción del crecimiento en plantas, la resistencia sistémica inducida (RSI) en las y el control de fitopatógenos (Carrillo y Ramírez, 2022).

## **1.4 Pruebas Fisiológicas**

### **1.4.1 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 (RPCV) para promover el crecimiento y rendimiento de plantas en suelos salinos (Villalobos, 2015).

### **1.4.2 Crecimiento de bacterias con diferentes niveles de 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 (Ramírez, 2013). Según el pH óptimo de crecimiento:

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

### **1.4.3 Antibiograma**

Los antibiogramas son ensayos in vitro realizados en laboratorio bajo 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).

La realización de un antibiograma se basa en el patrón de resistencia de cada bacteria. El antibiograma, mide la sensibilidad de una bacteria frente a diferentes antimicrobianos in vitro y a partir de estos resultados predice la eficacia in vivo. 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  $\mu\text{g/ml}$  o en  $\text{mg/l}$ ). 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, farmacocinéticas y de eficacia clínica, para definir la sensibilidad (éxito terapéutico) o resistencia de las diferentes especies bacterianas a cada antimicrobiano (Miproma, 2018).

## **1.5 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).

### **1.5.1 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).

### **1.5.2 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 burbujas (Fernández et al., 2011).

Hernández (2017) plantea que, este tipo de prueba bioquímica es muy útil para observar la presencia de la enzima catalasa que se encarga de descomponer el peróxido ( $H_2O_2$ ) 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.

## **1.6 Screening biológico**

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

### **1.6.1 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; Morales and Hernández, 2023). Según Rojas *et al* (2015), los mecanismos implicados en el crecimiento vegetal se dividen en directos e indirectos:

#### ***1.6.1.1 Mecanismos directos***

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

#### ***1.6.1.2 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.

### 1.7 Definición e importancia de leguminosas

Las leguminosas, pertenecientes a la familia Fabaceae, son un grupo amplio de plantas que incluye desde árboles hasta arbustos y enredaderas. Su característica distintiva es la capacidad de sus frutos en forma de vaina para contener semillas, conocidas como legumbres, las cuales son nutritivas, bajas en grasas, y ricas en proteínas, fibra, vitaminas y minerales (Grudemi, 2022). Además, poseen la habilidad de fijar nitrógeno atmosférico en el suelo, gracias a la simbiosis con bacterias del género *Rhizobium*, formando nódulos en sus raíces que enriquecen el suelo tras la descomposición de la planta. Este ciclo biológico contribuye a la fertilidad natural de los suelos, mejorando la calidad del terreno y optimizando su uso en cultivos. Estas plantas también desarrollan raíces profundas, que ayudan a mejorar la estructura del suelo, facilitando la penetración de oxígeno, nutrientes y agua (TECH®, 2023).

Las leguminosas son esenciales en la dieta humana por su alto contenido en proteínas y nutrientes. Representan una excelente fuente de proteínas vegetales para personas vegetarianas y veganas, además de aportar fibra, hierro, calcio y ácido fólico, nutrientes clave para la salud digestiva y cardiovascular. Asimismo, como carbohidratos complejos, son una fuente energética de liberación lenta, adecuada para quienes realizan actividades físicas intensas (Dumas, 2022).

### 1.8 Frijol Rojo (*Phaseolus vulgaris*)

El frijol rojo es una variedad de *Phaseolus vulgaris*, una legumbre comúnmente cultivada en muchas partes del mundo por su alto valor nutricional.

**Características:** Tiene un color rojo distintivo y un tamaño mediano. Es rico en proteínas, fibra, hierro, magnesio, y potasio, lo que lo convierte en un alimento básico en diversas dietas.

**Usos:** Se utiliza en una gran variedad de platos tradicionales, especialmente en la cocina latinoamericana, como sopas, guisos, y frijoles refritos.

**Beneficios para la salud:** Ayuda en la regulación del azúcar en sangre, es beneficioso para la salud cardiovascular, y apoya la digestión debido a su alto contenido de fibra.

### 1.9 Frijol Mantequilla (*Phaseolus lunatus*)

Conocido también como "frijol lima", este frijol es una legumbre suave y cremosa que se presenta en variedades de color blanco o amarillo claro.

**Características:** Los frijoles mantequilla son grandes y tienen una textura cremosa cuando se cocinan, lo que les da su nombre característico.

**Usos:** Muy populares en sopas, guisos, y ensaladas, y también se consumen secos, frescos o enlatados.

**Beneficios para la salud:** Son ricos en fibra, proteínas, hierro, y compuestos antioxidantes. Ayudan a reducir el colesterol, a controlar el peso, y a mejorar la salud intestinal.

### **1.10 Frijolillo Silvestre (*Centrosema virginianum*)**

Es una leguminosa perenne y trepadora, nativa de América Central y el sureste de Estados Unidos, común en pastizales y áreas perturbadas.

**Características:** Se caracteriza por sus flores de color lila o púrpura y hojas trifoliadas. Es muy resistente a suelos pobres y condiciones de sequía, siendo una excelente opción para suelos degradados.

**Usos:** Se utiliza principalmente como forraje para el ganado y en programas de recuperación de suelos debido a su capacidad de fijar nitrógeno, lo cual mejora la fertilidad del suelo.

**Importancia Ecológica:** Su capacidad para fijar nitrógeno y mejorar la estructura del suelo la convierte en una planta clave en la restauración de ecosistemas y en prácticas agrícolas sostenibles.

## **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. Sus 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 empleado en este estudio fueron once cepas aisladas de la colección del Centro de Investigaciones Biotecnológicas de la rizosfera de cultivos vegetales de La comuna Colonche, provincia de Santa Elena.

Para las pruebas de inoculación en las plantas, se emplearon semillas recicladas de frijol rojo, frijol mantequilla y frijolillo.

#### **2.2.2 Material de laboratorio**

Los materiales que se utilizaron fueron:

- Agua destilada
- Alcohol
- Bandejas plásticas para germinar
- Papel toalla
- Pinzas
- Vaso de precipitación
- Cajas Petri
- Espátula
- Gradillas
- Mecheros
- Claves de identificación
- Tubos de ensayo
- Pipeta de 10 ml



- Guantes
- Mascarilla
- Parafilm
- Papel aluminio
- Porta y cubre objetos

### **2.2.3 Equipos de laboratorio**

- Balanza
- Estufa
- Cámara de flujo Laminar
- Autoclave
- Incubadora
- Agitador
- Microscopio
- Refrigerador

### **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 ( $H_2SO_4$ )
- Hidróxido de sodio (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 leguminosas para la evaluación del porcentaje y emergencia de las semillas con 16 tratamientos y dos controles (1) Agua destilada y (2) YaraVita, por triplicado.

La segunda fase fue realizada 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.** Descripción de los tratamientos en fase de vivero de los aislados bacterianos.

Tratamientos	Aislados
T1	VR/C 102 + T/C 103
T2	VR/C 103 + T/C 102
T3	KG/C 104 + KG/C 105
T4	T/C 105 + VR/C 104
T5	YaraVita (control químico)
T6	Agua Destilada (control absoluto)

KG: King Grass; CT: Cultivo Tanzania; VRC: Variedad Robusta Caturra

## **2.5 Manejo del experimento**

### **2.5.1 Esterilización de materiales**

Se realizó 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 realizó en el Autoclave automático a 121 °C a 1 atmósfera de presión por 15 minutos.

### **2.5.2 Procedimiento de medios de cultivos**

#### *2.5.2.1 Medio de cultivo LMA*

Se utilizó el medio de cultivo extracto de levadura manitol agar (LMA) para el aislamiento de bacterias rizosféricas, se preparó 1.000 mL en dos matraces de 500 mL. Se pesó 5 g de manitol, 0.25 g extracto de levadura, 0.25 g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.10 NaCl, 7.5 g de agar y 0.05 MgSO<sub>4</sub>, los insumos se disolverán en 500 mL de agua destilada.

### **2.5.3 Pruebas bioquímicas**

#### *2.5.3.1 Tinción de Gram*

Efectuar el frotis de manera regular para luego fijarlo a la llama y cubrir con cristal violeta durante 1 minuto, después se lavara ligeramente con agua corriente, para cubrir con yodopovidona (Lugol) durante 1 minuto, para finalizar lavaremos con agua corriente, decolorar con alcohol-acetona y volver lavar con agua corriente, cubrir con safranina durante 30 segundos, lavar con agua corriente para secar y observar al microscopio (Quinzo, 2022).

#### *2.5.3.2 Prueba de Catalasa*

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

#### *2.5.3.3 Capacidad de variar el pH en medio de cultivo 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.

### **2.5.4 Pruebas Fisiológicas**

#### *2.5.4.1 Prueba de crecimiento en tres niveles de diferentes 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 incubaron a 28 °C.

#### *2.5.4.2 Crecimiento de bacterias en tres concentraciones diferentes en 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 4 a 7 días observando el crecimiento de cada cepa.

#### *2.5.4.3 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, por 20 minutos. 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.

### **2.5.5 Reactivación de aislados bacterianos**

Los aislados fueron reactivados en medio LMA (Levadura Manitol Agar), 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 (Caldo de Lactosa-Peptona) realizando tres asadas de cada aislado, posteriormente se procedió a incubar con las mismas condiciones mencionadas, en agitación a 70 rpm (Macias 2024).

### **2.5.6 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-Valenzuela, 2021).

## **2.6 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 dos cepas escogidas, acorde a las características de color (blancas, blanquecinas) y de consistencia (Gomosas) obteniendo 1 mL por tratamiento; a los 7 días DDT se realizó una reinoculación a las plántulas en estudio.

### **2.6.1 Riego**

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

### **2.6.2 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.

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

## **2.7 Parámetros evaluados**

### **2.7.1 Fisiológicos y Bioquímicos de las bacterias**

#### *2.7.1.1 Tinción de gran*

Se observó en el microscopio con objetivos de 40 X y 100 X la coloración de las bacterias Grampositivas (morado) y gramnegativas (rosado); también observando la forma o morfología de cada una de ellas.

#### *2.7.1.2 Prueba de catalasa*

Hernández (2017) menciona que, si se visualiza la formación de burbujas el resultado es positivo, mientras que si no sucede de lo contrario el resultado es negativo. Si la reacción de esta prueba es positiva se evaluó en base a la cantidad de efervescencia producida (Muy Poco: (-); Medio: ()); Abundante: (+++) acorde a (Soto-Valenzuela, 2021).

### 2.7.1.3 Viraje 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 Poco (+); Medio (++) y Abundante (+++).

**Tabla 2.** Rangos para evaluar el crecimiento del viraje del medio.

<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>
( + )	Poco viraje
( ++ )	Medio viraje
( +++ )	Abundante viraje

### 2.7.1.4 Crecimiento a diferentes niveles de pH

Se midió con calibrador Vernier el halo de crecimiento formado por las cepas inoculadas, acorde a los rangos mencionados en el diámetro del halo de crecimiento formado por las mismas y se analizó de manera cualitativa detallando los rangos en la Tabla 3.

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

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

Fuente: (Soto-Valenzuela, 2021)

### 2.7.1.5 Crecimiento a diferentes niveles de Salinidad

De la misma manera se midió con el calibrador Vernier el diámetro del halo de crecimiento formado por las cepas inoculadas y para comparar acorde a los rangos mencionados en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Rangos para evaluar el crecimiento a diferentes niveles de NaCl de las cepas aisladas.

<b>Rango (cm)</b>	<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>
0	( - )	Sin crecimiento

0,2-1,0	( + )	Regular crecimiento
1,01-1,5	(++)	Buen crecimiento
1,51-1,74	(+++)	Abundante crecimiento

Fuente: (Soto-Valenzuela, 2021)

#### 2.7.1.6 *Antibiograma*

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

### 2.7.2 **Variables agronómicas (In Vitro)**

#### 2.7.2.1 *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 (García López et al., 2019)

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

#### 2.7.2.2 *Longitud radicular*

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

### 2.7.3 **Variables Agronómicas Vivero 15 DDT**

#### 2.7.3.1 *Numero de hojas*

Se contabilizaron todas las hojas formadas completamente (Macías, 2024).

#### 2.7.3.2 *Longitud de tallo (LT)*

La longitud del tallo se midió en centímetros con el calibrador Vernier desde la base del tallo hasta el primer nudo.

#### 2.7.3.3 *Altura de planta (AP)*

Medida en centímetros con el calibrador Vernier, considerando la medición desde la raíz

hasta la parte apical de la planta, según la metodología de Suárez (2013).



#### 2.7.3.4 *Longitud radicular (Lr)*

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

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

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

#### 2.7.3.6 *Diámetro del tallo (DT)*

Se midió en centímetros con el calibrador Vernier de los tallos por debajo de las hojas unifoliadas. Por último, se realiza un resumen de las medias obtenidas para la respectiva comparación y análisis.

### **2.8 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 Tejena, 2024)

Las variables de las pruebas del screening biológico, fueron analizadas con la herramienta informática Infostat, con la cual se elaboró 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 empleó el análisis de Clúster aglomerativo de distancias euclidianas ligado al método de Ward (Soto-Valenzuela, 2021).

## CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Caracterización bioquímica de posibles cepas bacterianas PGPR.

La identificación bioquímica determinó que la mayoría de las cepas estudiadas corresponden al grupo de bacilos Gram negativos, confirmadas mediante tinción de Gram. La observación microscópica reveló formas bacilares (Bastones) y cocos (Esferas). Con colonias de bordes lisos, de color blanca, blanquecina, transparente, amarillentas y de crecimiento homogéneo en todos los cultivos aislados en el medio LMA.

Según Ormaechea (2024), una de las maneras para diferenciar a las bacterias es por su pared celular, hay bacterias con una pared gruesa formados por peptidoglicanos dando así un color violeta intenso al microscopio, denominándolas como Gram positivas y otras con una pared mucho más delgada observadas el microscopio aparecen en rosado, consideradas como Gram negativas (Ver ANEXO 7A).

En la tabla 5, se muestran los resultados de las pruebas rápidas realizadas para el estudio, obteniendo que el 63,6% son Bacilos Gram (-) y el 36, 3% son Cocos Gram (+).

**Tabla 5.** Caracterización bioquímica de cepas las cepas estudiadas.

CEPAS BACTERIANAS	Forma	Tinción de Gram	Catalasa
Kg/C 102	Bacillos	(-)	(-)
Kg/ C103	Bacillos	(-)	(++)
Kg/C 104	Cocos	(+)	(++)
Kg/C 105	Bacilos	(-)	(+)
Vr/C 102	Bacilos	(-)	(+++)
Vr/C1 03	Cocos	(+)	(+)
Vr/c 104	Cocos	(+)	(+++)
T/C 102	Bacilos	(-)	(++)
T/C 103	Cocos	(+)	(+)
T/C 104	Cocos	(+)	(++)
T/C 105	Bacilos	(-)	(-)

KG: King Grass; CT: Cultivo Tanzania; VRC: Variedad Robusta Caturra

Muy Poco (KG/C 102 y T/C 105), Medio (Kg/C 103, KG/C 104, T/C 102 y T/C 105) y Abundantes (Vr/C 102 y Vr/C 104). Esta enzima está presente en la mayoría de las bacterias que sintetizan catalasa, las cuales hidrolizan el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno

gaseoso que se libera en forma de burbujas (Bou et al., 2011); una cepa con menos actividad catalasa tiene menor capacidad para descomponer el peróxido de hidrogeno, por lo que es más vulnerable a que sufra daño oxidativo, esto puede hacerlas menos resistentes a reacciones metabólicas que lo utilizan para atacar a microorganismo.

En la capacidad de viraje de medio LMA suplementado con Azul de Bromotimol (LMA-ABT), se observó que la cepa Kg/C 102 presentó un viraje del color azul a amarillo del medio LMA con azul de bromotimol a los 5 días de incubación, lo que sugiere una alta actividad metabólica en la fermentación de lactosa; al contrario, la cepa KG/C 103 no mostró cambios en el color del medio indicando una baja capacidad de metabolizar bajo condiciones experimentales (Figura1 y Tabla 6)

Los resultados muestran que, las cepas que produjeron abundante crecimiento y viraje del medio LMA-ABT fueron Kg/C 102 y Kg/C 104; viraje medio las cepas Vr/C 104, T/C 103 y T/C 104 y poco viraje las cepas Kg/C 105, Vr/C 102, Vr/C1 03, T/C 102 y T/C 105. Estas bacterias se comportan similar a los rizobios, como lo reportado por Soto-Valenzuela (2021) refiriendo que, las rizobacterias posee con frecuencia la capacidad de viraje del medio de cultivo LMA-ABT y por consiguiente se las considera ácido productoras.



Figura 1. Capacidad de viraje del medio LMA-ABT.

Tabla 6. Reacción de las cepas en medio LMA-Azul de bromotimol.

Cepas	Símbolo	Significado
Kg/C 102	(+++)	Abundante viraje

Kg/ C103	(+)	Poco viraje
<b>Kg/C 104</b>	<b>(+++)</b>	<b>Abundante viraje</b>
Kg/C 105	(+)	Poco viraje
Vr/C 102	(+)	Poco viraje
Vr/C 103	(+)	Poco viraje
Vr/c 104	(++)	Medio viraje
T/C 102	(+)	Poco viraje
T/C 103	(++)	Medio viraje
T/C 104	(++)	Medio viraje
T/C 105	(+)	Poco viraje

### 3.2 Caracterizaciones fisiológicas de cepas bacterianas posibles PGPR

#### 3.2.1 Efecto de la salinidad en el crecimiento de las bacterias

Los resultados de las pruebas de crecimiento de las bacterias bajo los niveles de concentración de 1,5%, 3,5% y 5,5% de NaCl, muestran los siguientes patrones: Sin crecimiento (-); Regular crecimiento (+); Buen crecimiento (++) y Abundante crecimiento (+++).

La mayoría de las cepas mostraron crecimiento abundante en las concentraciones 1,5% y 5,5% como se observa en la Tabla 7. Mientras que, las cepas Kg/C 102 (2,83 ++), Vr/C 102 (2,00 +++) y T/C 102 (1,90 ++), tienen una capacidad notable para crecer en ambientes con salinidad moderada. En el nivel 3,5% algunas cepas como Vr/C 102 (++) y T/C 102 (++) presentaron mayor crecimiento con 1,5 y 1,47 cm, respectivamente.

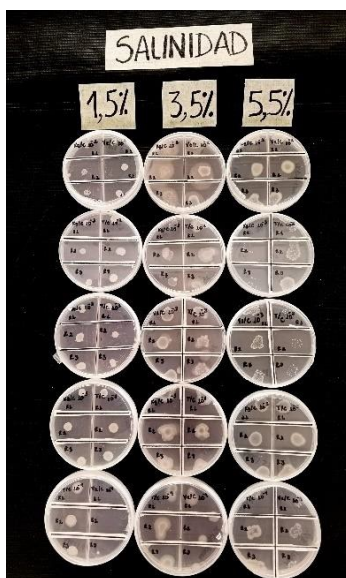
**Tabla 7.** Crecimiento de las cepas bacterianas a diferentes concentraciones de salinidad.

Cepas	NaCl 1,5%	NaCl 3,5%	NaCl 5,5%
Kg/C 102	0,73 (+)	2,83 (+++)	1,13 (++)
Kg/ C103	0,60 (+)	1,13 (++)	1,00 (+)
Kg/C 104	0,63 (+)	1,00 (++)	1,03 (++)
Kg/C 105	0,80 (+)	1,40 (+++)	1,23 (++)
Vr/C 102	0,70 (+)	2,00 (+++)	1,50 (+++)
Vr/C1 03	0,87 (+)	1,17 (++)	1,07 (++)
Vr/c 104	0,90 (+)	0,87 (+)	1,07 (++)

T/C 102	0,90 (+)	1,90 (++)	1,47 (+++)
T/C 103	0,67 (+)	1,13 (+)	1,00 (+)
T/C 104	1,03 (++)	1,53 (+++)	1,03 (++)
T/C 105	0,87 (+)	1,27 (++)	1,37 (+++)

KG: King Grass; CT: Cultivo Tanzania; VRC: Variedad Robusta Caturra

Cepas como Kg/C 105 y T/C 104 crecieron mejor a las concentraciones más altas de 3,5% y 5,5% de NaCl, la respuesta de estas cepas con capacidad de crecer en concentraciones salinas son similares a lo reportado por Halima Berrada (2012), donde menciona crecimiento de varias cepas al nivel 3,5% de NaCl, demostrando mayor tolerancia y adaptación a condiciones de estrés salino (Figura2).



**Figura 2.** Crecimiento de bacterias aisladas a los diferentes niveles de salinidad evaluados.

### 3.3 Efectos del pH en el crecimiento de cepas bacterianas

Todas las cepas muestran buen crecimiento bajo condiciones de pH como se presenta en la Tabla 8. Sin embargo, varias cepas mostraron crecimiento destacable en los tres niveles de pH como la cepa Kg/C 105 que presentó crecimientos de 0,6; 2,5 y 1,40 cm; respectivamente. De manera similar la cepa T/C 102 también presenta crecimientos de 1,5; 2,50 y 1,93 cm, respectivamente. Así como también la cepa T/C 103 presentó capacidad de crecimiento en todos los niveles de pH experimentados, con valores de 0,90; 2,03 en los niveles de 4; 6,5 y pH 8, respectivamente; como lo reportado por Vázquez (2002), que

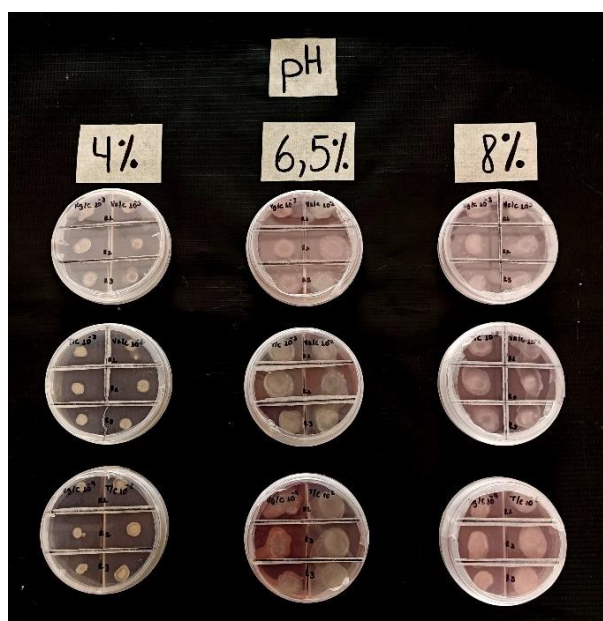
indicaría una probable adaptabilidad a estos ambientes las cepas rizobacterianas con buen crecimiento a nivel de pH 8 (Figura 3).

**Tabla 8.** Crecimiento de las cepas bacterianas a distintos niveles de pH.

Cepas	pH4%	pH 6,5%	pH 8%
Kg/C 102	0,70 (+)	2,00 (+++)	2,00 (+++)
Kg/ C103	0,60 (+)	1,50 (+++)	1,63 (+++)
Kg/C 104	0,63 (+)	1,70 (+++)	1,60 (+++)
Kg/C 105	0,60 (+)	2,50 (+++)	1,40 (++)
Vr/C 102	0,90 (+)	1,87 (+++)	1,60 (+++)
Vr/C1 03	0,83 (+)	1,77 (+++)	1,53 (+++)
Vr/C 104	0,77 (+)	1,83 (+++)	1,53 (+++)
T/C 102	1,50 (+++)	2,50 (+++)	1,93 (+++)
T/C 103	0,90 (+)	2,03 (+++)	2,03 (+++)
T/C 104	0,63 (+)	1,43 (++)	1,50 (++)
T/C 105	0,63 (+)	1,80 (+++)	1,53 (+++)

KG: King Grass; CT: Cultivo Tanzania; VRC: Variedad Robusta Caturra

Otras cepas como Vr/C 102 y Vr/C 103 también registraron buen crecimiento en todos los niveles de pH experimentados. Según Rodrigo (2023), muchos de éstos microorganismos crecen alrededor de pH 7, pero pueden crecer bien entre pH 5 y 8. Sin embargo, algunas bacterias acéticas tienen un crecimiento entre pH 5,4 y 6,3 y las bacterias lácticas, tienen crecimiento entre pH 5,5 o incluso inferior a pH 6.



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

Las cepas Vr/C 102 y Vr/C 103 destacan por su crecimiento en todos los niveles de pH experimentados. Según (Rodrigo, 2023), muchos microorganismos crecen alrededor de pH 7, pero pueden crecer bien entre pH 5 y 8. Sin embargo, algunas bacterias acéticas tienen un crecimiento entre pH 5,4 y 6,3 y las bacterias lácticas, tienen crecimiento entre pH 5,5 o incluso inferior a pH 6.

### 3.3.1 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 9. De acuerdo con la interpretación de los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI), se clasificaron las cepas como sensibles (S) o resistentes (R) (IDEXX, 2023).

Todas las cepas mostraron sensibilidad ante el antibiótico ciprofloxacina. Algunas cepas lograron ser resistentes como Kg/C 103, Kg/C 104, Kg/C 105, T/C 103 y T/C 104 ante los antibióticos claritromicina y sulfametoxazol; reflejando comportamiento similar con *Rhizobium*, que presenta de la misma manera resistencias a otros tipos de antibióticos, como lo expresaron López-Alcocer *et al.*, (2017).

Mientras que, Vr/C 103 y Vr/C 104 son sensibles a los antibióticos claritromicina y Sulfametoxazol, categorizándose como las mejores cepas.

**Tabla 9.** Sensibilidad y Resistencia a tres antibióticos.

Cepas	CI	E	CL
Kg/C 102	S	S	R
Kg/ C103	S	R	R
Kg/C 104	S	R	R
Kg/C 105	S	R	R
Vr/C 102	S	R	S
Vr/C 103	S	S	R
Vr/C 104	S	S	R
T/C 102	S	R	S
T/C 103	S	R	R
T/C 104	S	R	R
T/C 105	S	S	R

Ci: Ciprofloxacina; Cl: Claritromicina; E: Sulfametoxazol

### 3.4 *Screening biológico en tres cultivos vegetales*

#### 3.4.1 *Germinación In vitro*

Los datos obtenidos indican que, las distintas variedades de frijol respondieron de manera diferente a los tratamientos en porcentaje de germinación y crecimiento radicular, los cuales se presentan en la Tabla 10.

#### 3.4.2 *Porcentaje de germinación en leguminosas*

Las pruebas realizadas evidencian diferencias significativas entre los tratamientos mediante el análisis de Tukey con un nivel de significancia  $>0.05$ . Se identificaron dos grupos estadísticos para los cultivos de frijol rojo, frijol mantequilla y frijolillo. Todos los tratamientos alcanzaron el 100% de germinación en frijol rojo.

Para el frijol mantequilla, los tratamientos T1, T6 y T8 mostraron también altos porcentajes de germinación (100%). Mientras que, los tratamientos T9 y los controles T12 y T13, presentaron germinación de 65%.

En la variedad de frijolillo, presentaron variados y bajos porcentajes respecto a los dos frejoles rojo y mantequilla, en todos los tratamientos. Sin embargo, el tratamiento T8 presentó el porcentaje más alto con 65%. Seguidos por T3 y T4 mostraron el mejor con 50% de germinación. Estos resultados sugerirían que varios tratamientos inoculados tienen un efecto positivo significativo sobre la germinación de las semillas de frijol rojo y frijol mantequilla, comparados con los controles.

El alto coeficiente de variación en el frijolillo indicaría que esta especie (considerada forestal) es más sensible a las variaciones en los tratamientos, presentando una menor tasa de germinación general y mayor respuesta a las condiciones intrínsecas de los otros tratamientos, acorde a los resultados presentados por Soto-Valenzuela (2021), en la leguminosa forestal *Clitoria Brachystegia*.

**Tabla 10.** Efecto de la inoculación de las posibles cepas PGPR en la germinación, a los 7 días.

<b>Porcentaje de Germinación (7 días)</b>			
<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>FRIJOL ROJO</b>	<b>FRIJOL MANTEQUILLA</b>	<b>FRIJOLILLO</b>
T1 (Kg/C 102)	100 A	100 A	48,33 Ab
T2 (Kg/ C103)	100 A	96,67 Ab	41,67 Ab
<b>T3 (Kg/C 104)</b>	<b>100 A</b>	<b>98,33 Ab</b>	50 Ab



<b>T4 (Kg/C 105)</b>	<b>100 A</b>	<b>98,33 Ab</b>	50 Ab
T5 (Vr/C 102)	100 A	70 C	46,67 A
T6 (Vr/C 103)	100 A	100 A	35 B
<b>T7 (Vr/c 104)</b>	<b>100 A</b>	<b>98,33 A</b>	38,33 A
<b>T8 (T/C 102)</b>	<b>100 A</b>	<b>100 A</b>	<b>65 A</b>
T9 (T/C 103)	100 A	53,33 Ab	40 Ab
T10 (T/C 104)	100 A	93,33 Ab	38,33 A
T11 (T/C 105)	100 A	93,33 A	51,67 Ab
T12 (CONTROL A- D)	100 B	85 a	35 ab
T13 (QUIMICO YARAVITA)	96,67 Ab	98,33 a	45 ab
C.V	4,09	10,5	29,4

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

### 3.4.3 Longitud radicular a los 7 días

La respuesta positiva de frijol rojo ante los tratamientos inoculados indica una buena afinidad de este cultivo con las cepas evaluadas, lo cual podría estar relacionado con la disponibilidad de nutrientes, factores de estimulación de crecimiento y probable especificidad (Zuñiga, 2012). Con respecto a los tratamientos que se destacan con mejores resultados están el T3 (Kg/C 104) alcanzando el mayor crecimiento de raíz con 17,2 cm; seguido por el T4 (Kg/C 105) con 16,65 cm y T7 (Vr/C 104) con 16,74 cm, demostrando que tienen capacidad para estimular el crecimiento radicular.

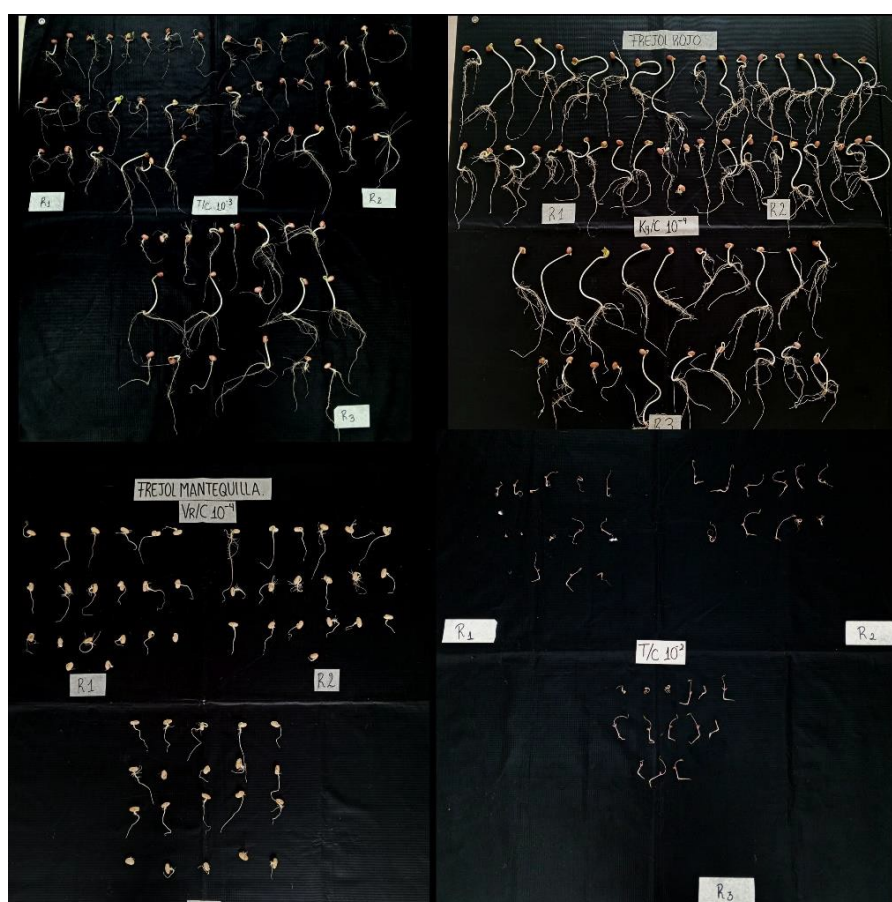
**Tabla 11.** Efecto de la inoculación de las bacterias en la longitud radicular evaluado a los 7 días.

<b>Longitud radicular (cm) (7 días)</b>			
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>FREJOL ROJO</b>	<b>FREJOL MANTEQUILLA</b>	<b>FRIJOLILLO</b>
T1 (Kg/C 102)	15,18 ABC	8,87 ABC	1,3 A
T2 (Kg/ C103)	13,47 ABC	4,34 A	0,99 A
<b>T3 (Kg/C 104)</b>	<b>17,2 ABC</b>	<b>10,26 A</b>	1,08 A
<b>T4 (Kg/C 105)</b>	<b>16,65 ABC</b>	7,04 A	1,45 A
T5 (Vr/C 102)	13,58 ABC	2,84 AB	1,24 A
T6 (Vr/C1 03)	13,75 ABC	6,73 A	0,92 A
<b>T7 (Vr/C 104)</b>	<b>16,74 ABC</b>	<b>10,99 ABC</b>	0,77 A
T8 (T/C 102)	14,44 ABC	6,62 AB	<b>1,91 A</b>
T9 (T/C 103)	12,69 ABC	1,1 AC	0,86 A
T10 (T/C 104)	14,63 ABC	4,59 A	1,07 A
T11 (T/C 105)	15,24 ABC	5,82 A	1,33 A
T12 (CONTROL A-D)	5,21 A	4,41 A	0,83 A
T13 (QUIMICO YARAVITA)	5,42 AB	3,27 A	0,84 A
CV	7,82	15,63	17,84

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

Mientras que, en el frijol mantequilla el T7 (Vr/C 104) presenta mayor crecimiento con 10,99 cm, seguido del T3 (Kg/C 104) con 10,26 cm y T1 (KG/C 102) con 8,87 cm. Seguido del T9 (T/C 103) solo 1,1 cm de crecimiento radicular, muy inferior a los demás tratamientos. Esto indicaría que estos tratamientos son efectivos en este tipo de frijol; mostrando una respuesta positiva y similar a la del frijol rojo.

En el frijolillo, el T8 (T/C 102) con un crecimiento de 1,91 cm se presenta mejor; seguido por el T4 (Kg/C 105) con 1,45 cm y T11 (T/C 105) con 1,33 cm. Ambos controles (T12) y Yaravita (T13) presentan crecimiento de raíz muy reducido, con valores de 0,83 y 0,84 cm, respectivamente. La Figura 4 muestra la diferencia de crecimiento entre las cepas inoculadas respecto a los controles con agua destilada (T12) y químico (YaraVita).



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

### 3.5 *Parámetros de crecimiento evaluados a los 15 DDT*

En estas variables se muestran los resultados obtenidos del mix de cepas escogidas como tratamientos en las leguminosas estudiadas, cuyas variables incluyen número de hojas, largo

de la planta, largo del tallo, longitud radicular, ancho de la hoja, largo de la hoja y diámetro del tallo (Figura 5).

**Número de hojas:** los resultados en las diferentes variedades de frijol indican que el T5 obtuvo un promedio de 8 hojas en la variedad frijol rojo, presentando diferencia significativa. El frijol mantequilla el T6 demostró un promedio de 5 hojas, mientras que el frijolillo obtuvo un promedio de 3 hojas en el T1, estos cultivos no presentan diferencias significativas.

**Largo del tallo:** En el cultivo de frijol rojo, los tratamientos T2 y T3 presentaron igual promedio (28,92 cm), los cuales destacan en el desarrollo del tallo superando en un 30% al control T5 con promedio de 16,17 cm; mientras que, el T4 presentó un promedio de 5,47 cm. En cuanto al frijol mantequilla, los tratamientos T6 y T4 presentaron valores de 22,33 y 21,20 cm, respectivamente; mostrando un buen rendimiento.

En el frijolillo, también los valores son bajos en comparación a las otras dos variedades; el T5 muestra el valor más alto con 8,42 cm. Los demás tratamientos presentan valores inferiores al obtenido por el T5 (ver Anexo 13).

**Largo de la planta:** Los datos indican que, el control T5 obtuvo mayor longitud (69,25 cm) en frijol rojo. En el frijol mantequilla el T4 destaca con el mayor valor de 48,38 cm; mientras que, en el frijolillo el T4 presentó el mayor valor en esta variable con 15 cm; estos resultados coinciden con Borbor (2016), en un trabajo donde la altura de la planta con inoculante rizobiano autóctono fue mayor al control, pero en el cultivo de maíz en Manglaralto

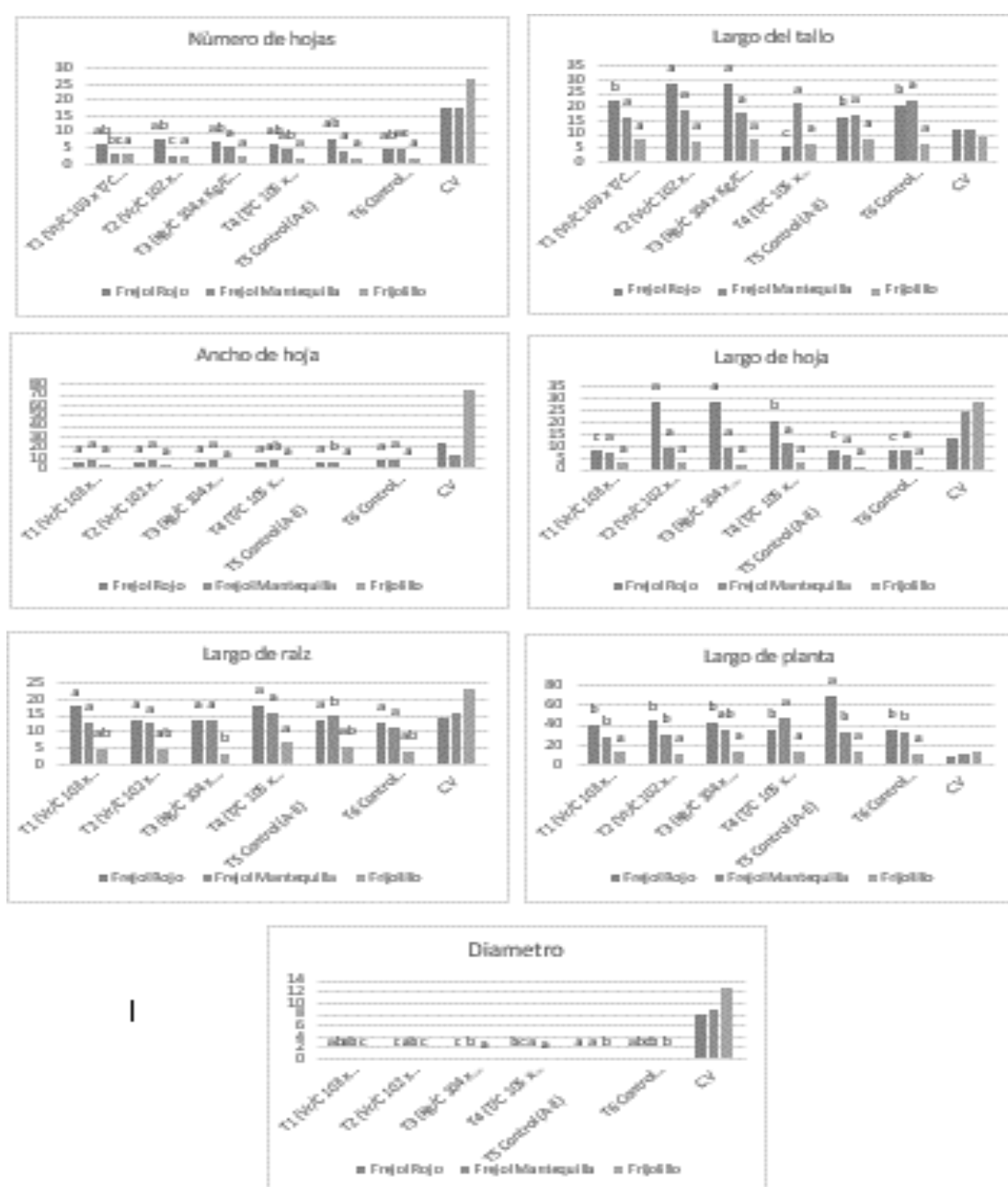
**Longitud Radicular:** El T4 presentó mayores valores en ambas variedades como el frijol rojo y mantequilla con promedios de 18,42 y 15,87 cm respectivamente; lo cual indica que este tratamiento tiene un desarrollo radicular alto. Mientras que, en el frijolillo el T4 tiene el promedio más alto de 6,75 cm, respecto a los otros tratamientos. Comparando con la investigación de García Pérez (2022), en semillas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con rizobios, donde el control logró una mayor diferencia significativa que los demás tratamientos en el desarrollo de la raíz.

**Ancho de la hoja:** En las dos variedades frijol rojo y frijol mantequilla, el T6 promedio fue de 7,33 y de 9,00 cm, respectivamente; lo cual, indica que para esta variable el control químico Yaravita fue mejor que los demás tratamientos.

**Largo de la hoja:** Los tratamientos T2 y T3 alcanzaron la mayor longitud con 28,92 cm para el frijol rojo, mientras que control T5 mostró el rendimiento más bajo con 8,20 cm. En el frijol mantequilla el T4 con 11,07 cm destacó entre los demás tratamientos. Mientras que, el mayor promedio calculado para el frijolillo fue de 3 cm.

**Diámetro del tallo:** En la variedad del frijol rojo, nuevamente los tratamientos T2 y T3 presentaron los valores más altos de (0,41 cm). En el frijol mantequilla el T3 y T6 se destacaron con los valores similares de 0,4 cm. El mayor promedio para el frijolillo fue el T1 y T2 con un promedio de 0.37 cm.

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



**Figura 5.** Efecto de inoculación de cepas bacterianas posibles PGPR, cultivos vegetales (*Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus coccineus* y *Centrosoma virginianum*) evaluando parámetros morfológicos.

### 3.6 Resumen de las variables

En la Tabla 12 se presentan los resultados que indican el comportamiento de los tres cultivos de leguminosas presentando respuestas variadas en los tratamientos.

El efecto del mejor tratamiento se observó particularmente en el T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105) con 4.78 hojas y en largo del tallo con 18,32, el T2 también muestra resultados sobresalientes en la longitud del tallo con 18,64 cm, comparado con el T6 Control Químico-Yaravita presenta resultados inferiores especialmente en número de hojas y longitud del tallo. Mientras que el T5 (A-D) tiene mayor longitud en la variable altura de la planta con 39,11 pero no se destaca en las demás variables.

**Tabla 12.** Resumen de promedios de las variables morfológicas de las cepas bacterianas estudiadas en los tres cultivos inoculados

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)

Tratamientos	NH	LT	AH	LH	LR	AP	DT
T6 Control (Químico-Yaravita)	3,83	16,71	<b>6,18</b>	5,94	9,44	26,35	0,32
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	4	15,67	<b>6</b>	6	<b>11,77</b>	27,83	<b>0,36</b>
T4 (T/C 105 x VR/C104)	4,22	11,13	4,73	<b>11,57</b>	<b>13,68</b>	<b>33,4</b>	0,27
<b>T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)</b>	<b>4,78</b>	<b>18,32</b>	5,13	<b>13,59</b>	10,38	<b>31,25</b>	<b>0,31</b>
<b>T2 (Vr/C 102 x T/C103)</b>	<b>4,22</b>	<b>18,64</b>	<b>5,73</b>	<b>13,67</b>	10,33	29,61	<b>0,38</b>
T5 Control (A-D)	<b>4,61</b>	13,92	4	5,42	<b>11,36</b>	<b>39,11</b>	0,27

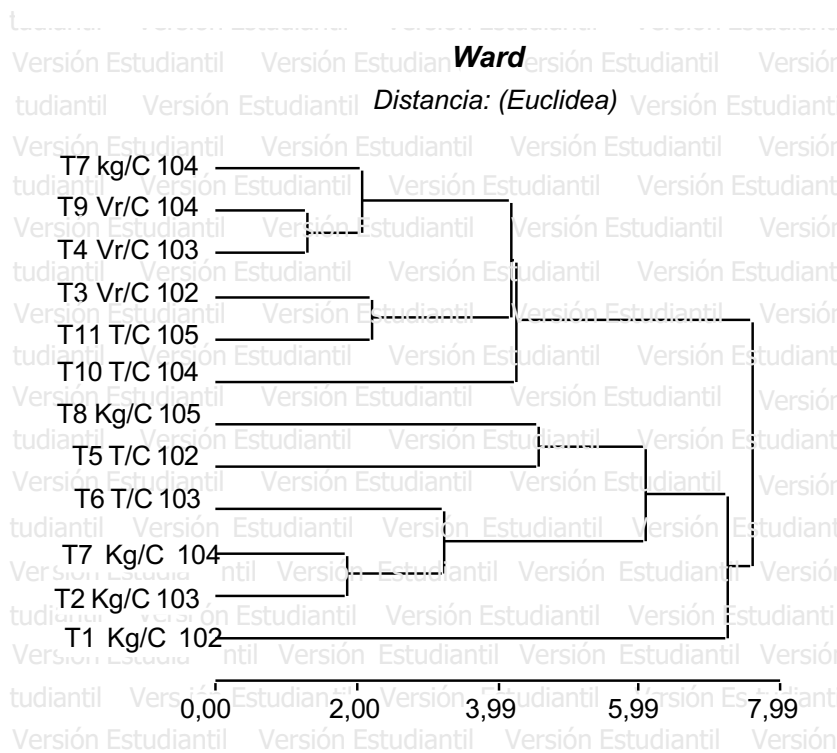
### 3.7 Análisis clúster de pruebas realizadas en cepas asiladas tipo PGPR

El clúster obtenido mediante el método de Ward y la distancia euclidiana (corte >5,99), mostró dos grupos de cepas bacterianas agrupadas en función a las pruebas bioquímicas realizadas.

En el primer grupo las cepas Kg/C 104, Vr/C 104, Vr/C 103, Vr/C 102, T/C 105 y T/C 104 y en el segundo grupo las cepas Kg/C 103, T/C 102, T/C 103, Kg/C 104, Kg/C 103 y Kg/C 102, resultados evidenciados en la figura 5.

Las cepas del primer grupo mostraron respuestas cercanas en cuanto a las condiciones de salinidad, pH y sensible ante los antibióticos ciprofloxacina y sulfametoxazol. Mientras que, en el segundo grupo las cepas muestran una actividad metabólica moderada a baja para alterar el pH, en condiciones de salinidad y cambio de color en el viraje del medio y poco resistentes a los antibióticos (Figura 6).

**Figura 6.** Análisis clúster realizado en las pruebas fisiológicas de las 11 cepas bacterianas estudiadas.

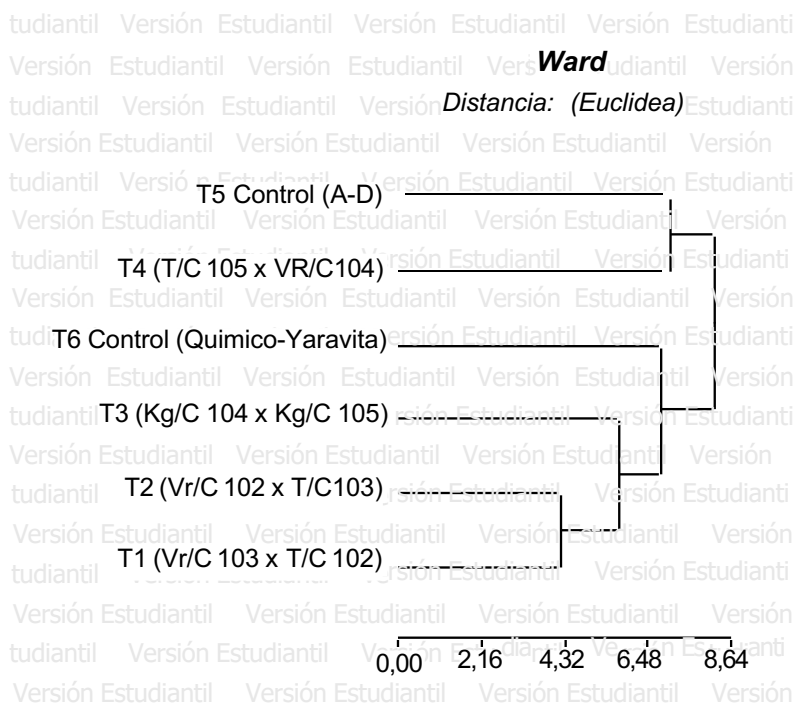


Adicionalmente se realizó un análisis clúster con el promedio de los resultados del efecto de las 10 cepas seleccionadas en variables de crecimiento en los tres cultivos de leguminosas, presentando dos grupos, a una distancia calculada de 6,48 (Figura 7).

Primer grupo están los tratamientos T5 (Control A-D) y T4 (T/C 105 x Vr/C 104), con valores en las variables muy cercanos. Pero con mejor respuesta en algunas variables del T4, donde respondió mejor que el control en los cultivos de frijol rojo y mantequilla (Ver Anexos 13 y 14 A), lo cual indicaría que la mezcla de éstas 2 cepas, del tratamiento 4 promueven el crecimiento vegetal en el desarrollo de los cultivos (Mora y Toro, 2007).

En el segundo grupo están los tratamientos T6 (Químico Yaravita), T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105), T2 (Vr/C 102 x TC/103 y el T1 (Vr/C 103 x T/C 102), se comportan similar al T6 con mejores resultados en la promoción de crecimiento en las tres leguminosas del mix de bacterias.

**Figura 8.** Análisis de Clúster del efecto de las cepas en el crecimiento de cultivos leguminosas



## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### ***Conclusiones***

1. El estudio evaluó características bioquímicas y fisiológicas de las once cepas bacterianas obtenidas de la rizosfera de los cultivos de Café, King Grass, Tanzania; como posibles bacterias promotoras de crecimiento vegetal PGPR, que favorezcan en el desarrollo de cultivos de leguminosas. Se identificaron principalmente bacilos Gram negativos, con notable diversidad metabólica y capacidad para tolerar condiciones de salinidad moderada y alta como las cepas Kg/C 102 y Vr/C 102. El crecimiento optimo se observó a pH 6,5%, aunque las cepas mostraron resistencia a condiciones ácidas y alcalinas. Además de la resistencia a dos de los tres antibióticos, destacó el crecimiento de las cepas en entornos controlados y adversos para otros microorganismos.
2. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran variabilidad en la respuesta a los tres cultivos de leguminosas. En el porcentaje de germinación el T8 (T/C 102), presentó 65% en frijolillo, mientras que en el frijol rojo y mantequilla varios tratamientos lograron el 100% de germinación. En cuanto a las variables las cepas del T4 (T/C 105 x Vr/C 104), seguido de T2 (Vr/C 102 x T/C103) mostraron mejor respuesta en los tres cultivos de leguminosas.
3. Las cepas Kg/C 104, Vr/C 102, Vr/C 104, T/C 103 y T/C 105 son las más prometedoras como PGPR debido a excelentes resultados en las pruebas fisiológicas y bioquímicas que indican su potencial para mejorar el crecimiento de las plantas, como resultados del clúster el T4 destacó en el primer grupo que considero algunos parámetros morfológicos de los cultivos, en las pruebas fisiológicas y bioquímicas.

### ***Recomendaciones***

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

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



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberto, L. (2020) 'Identificación Bacteriana'. Available at: [https://www.academia.edu/24977866/Identificaci%C3%b3n\\_Bacteriana](https://www.academia.edu/24977866/Identificaci%C3%b3n_Bacteriana) (Accessed: 30 November 2023).
- Apaza, I.d.v., 2017. Aislamiento e identificación de potenciales rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas de una especie vegetal nativa promisorias del distrito de yarabamba, arequipa. Universidad nacional de san agustín, arequipa - peru.
- Bastidas, y.e., vaca, j.k., 2018. Caracterización de microorganismos con actividad antimicrobiana provenientes de suelos de los cantones quito y rumiñahui (bachelorthesis).
- Benavides, d.a.m., londoño, m.f.m., buitrago, m.l.p., orjuela, n.i.c., 2020. Evaluación del potencial de bacterias promotoras de crecimiento vegetal pgpr, aplicadas a cultivos de papa en condiciones de invernadero.
- Borbor t, g., 2016. Efecto de la inoculación de bacterias nativas en dos híbridos de maíz (zea mays l.), provincia de santa elena. Rev. Científica tecnológica upse 3, 50–60. <https://doi.org/10.26423/rctu.v3i2.154>
- Bou, g., fernández-olmos, a., garcía, c., sáez-nieto, j.a., valdezate, s., 2011. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Enfermedades infecc. Microbiol. Clínica 29, 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- 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.
- Campoverde 2018. Propuesta de diseño y construcción de cuatro prototipos de huertos verticales para el establecimiento de lechuga (*Lactuca sativa*). <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/11460/1/T-UCSGPRE-TEC-AGRO-140.pdf>
- Carrera, J. (2015) 'Respuesta agronómica del cultivo de rábano (*Raphanus sativus*) a la aplicación de abonos orgánico'
- Díaz, s.p., molina, d.c.m., tapias, d.f.r., 2018. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: filogenia, microbioma, y perspectivas.
- Dumas, f.e., 2022. Información nutricional y actividad biológica del frijol (*Phaseolus vulgaris* l.). Técnica de ambato, ambato.
- 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. Mexico.
- Fernández, a., garcía, c., sáez nieto, j.a., valdezate, s., 2011. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Enfermedades infecc. Microbiol. Clínica 29, 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- Fernández-olmos, a., garcía, c., sáez-nieto, j.a., valdezate, s., 2011. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología.

- Fisiología Bacteriana* (2013) *slideshare*. Available at: <https://es.slideshare.net/tango67/fisiologa-bacteriana> (Accessed: 29 November 2023).
- Hernández, J.R. (2017) *Caracterización microbiana, issuu*. Available at: [https://issuu.com/jazinaruizhernandez/docs/unidad\\_3.\\_caracterizacion\\_microbian](https://issuu.com/jazinaruizhernandez/docs/unidad_3._caracterizacion_microbian)(Accessed: 27 November 2023).
- García López, I.J., Ruiz Torres, N.A., Lira Saldivar, R.H., Vera Reyes, I., Méndez Arguello, B., 2019. Técnicas para evaluar germinación, vigor y calidad fisiológica de semillas sometidas a dosis de nanopartículas 12.
- García Pérez, E.Zaret., 2022. Aislamiento y caracterización de microorganismos asociados a la planta de candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc) y su efecto en la germinación y crecimiento en *Phaseolus vulgaris*.
- Gómez Tejena, N.D., 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.
- Guale Oviedo, M. J. (2019). Aprovechamiento de las características organolépticas del Zucchini Gold (*Cucurbita pepo*) para el desarrollo de propuestas culinarias en la repostería. Guayaquil .
- Gutiérrez, J. And Ulloa, J. (2018) 'Valoración de la aplicación de inóculos de microorganismos benéficos (mobs) en el cultivo de rábano (*Raphanus sativus*)
- Gutiérrez, J. And Ulloa, J. (2018) 'Valoración de la aplicación de inóculos de microorganismos benéficos (mobs) en el cultivo de rábano (*Raphanus sativus*)
- Halima Berrada, 2012. Phenotypic and genotypic characterizations of rhizobia isolated from root nodules of multiple legume species native of Fez, Morocco. *Afr. J. Microbiol. Res.* 6. <https://doi.org/10.5897/ajmr11.1505>
- Hernández, J.R., 2017. Caracterización microbiana [www document]. Issuu. Url [https://issuu.com/jazinaruizhernandez/docs/unidad\\_3.\\_caracterizacion\\_microbian](https://issuu.com/jazinaruizhernandez/docs/unidad_3._caracterizacion_microbian) (accessed 11.27.23).
- Idexx, I., 2023. Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI) 3.
- Laserna, S. (02 de Enero de 2020). Agroes.es. Obtenido de <https://www.agroes.es/cultivos-agricultura/cultivos-huertahorticultura/calabacin/349-calabacin-descripcion-morfologia-y-ciclo>
- López-Alcocer, J.D.J., Lépiz-Ildfonso, R., González-Eguiarte, D.R., Rodríguez-Macias, R., López-Alcocer, E., Olalde-Portugal, V., 2017. Caracterización morfológica y bioquímica de cepas de *Rhizobium* colectadas en frijol común silvestre y domesticado. *Rev. Fitotec. Mex.* 40, 73–81. <https://doi.org/10.35196/rfm.2017.1.73-81>
- López-Jácome, I.E., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C.A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., Franco-Cendejas, R., 2014. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investig. En Discapac.* 3, 10–18.

- Macias, a.i.m., 2024. Screening de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, en el desarrollo del cultivo de maiz (zea mays) (experimental). Universidad estatal península de santa elena (upse), santa elena.
- Miproma, 2018. Antibiógrama: guía contra resistencias bacterianas. Miproma. Url <https://miproma.es/la-utilidad-de-los-antibiogramas/> (accessed 11.4.24).
- Mora, e., toro, m., 2007. Estimulación del crecimiento vegetal por burkholderia cepacia, una cepa nativa de suelos ácidos de sabanas venezolanas. Agron. Trop. 57, 123–128.
- Morales, i.m.m., hernández, d.m.g., 2023. Bacterias asociadas a la rizósfera: mecanismos de interacción y métodos de identificación. Cienc. Tecnol. 27, 37–43.
- Ormaechea, d.e., 2024. ¿en qué consiste la tinción de gram? Blogs mapfre. Url <https://www.salud.mapfre.es/pruebas-diagnosticas/otras-pruebas-diagnosticas/tincion-de-gram/> (accessed 10.30.24).
- Pagliero, f.e. (director), lorda, g. (co-directora), castaño, r.c., mariani, d., larroulet, m.s., 2008. Aspectos de la biotecnología de producción de cepas con características pgpr, utilizadas para la formulación de inoculantes simples y mixtos aplicables en cultivos de relevancia agroindustrial.
- Pardo, s., mazo, d., rojas, d., 2009. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: filogenia, microbioma, y perspectivas.
- Peralta, j., gonzalez, e., 2009. Organismos fijadores de nitrógeno [www document]. Herbario. Url [https://www.unavarra.es/herbario/leguminosas/htm/organismos\\_fijadores\\_.htm](https://www.unavarra.es/herbario/leguminosas/htm/organismos_fijadores_.htm) (accessed 11.12.24).
- 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, riobamba - ecuador.
- Quiñonez, Triviño 2019. “Análisis del sector agroindustrial de frutas y hortalizas de la zona 5 y su relación con el encadenamiento productivo” <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/41409/1/Trabajo%20de%20titulaci%C3%b3n%20final%20%28empastado%29.pdf>
- Ramirez, m.c., 2013. Fisiología bacteriana.
- Ramirez, D. (19 de Octubre de 2018). Gastronomía.com. Obtenido de <https://ecuador.gastronomia.com/noticia/8311/no-es-pepino>

- 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., romero, d.m., cristales, m. Del r.b., andrade, o.r., garcía, y.e.m., saenz, y.s., lucio, m.c., 2015. Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en américa y potencial biotecnológico. *Biológicas rev. Cienc. Biológico agropecu. Univ. Michoacana san nicolás hidalgo* 17, 24–34.
- Rosales, G. 2015. Sistema de protección en la región intertropical cálida de ecuador. Evaluación mediante el cultivo de cucumis sativus <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?Codigo=222153>
- Sánchez, D.B.L. and 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>.
- Saritama Torres, M. D. (2014). "Efecto de la nutrición orgánica en el cultivo de zucchini Cucúrbita pepo L. Var. Black beauty, sector Moraspamba-La Argelia 2014". Loja.
- Solmeglas, 2023. Medios de cultivo: qué son, usos y tipos - solmeglas. Url <https://solmeglas.com/medios-de-cultivo-que-son-funcionalidades-calidad/> (accessed 11.10.24).
- Soto, J.V. (2021) *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), santa elena.
- Tech®, r.t.f., 2023. Leguminosas son un ingrediente clave en la alimentación plant-based [www document]. Food tech - medio not. Líder en ind. Aliment. Bebidas. Url <https://thefoodtech.com/nutricion-y-salud/leguminosas-son-un-ingrediente-clave-en-la-alimentacion-plant-based/> (accessed 11.9.24).
- Vázquez, g., 2002. Influencia del ph en el crecimiento de quince cepas de hongos ectomicorrizógenos 15.

- 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, la agujas.
- Wong, e., 2008. Metodología para realizar estudios de evidencia microbiológica en plantas procesadoras de alimentos. Agron. Mesoam. 19, 131–137. <https://doi.org/10.15517/am.v19i1.5030>

## ANEXOS



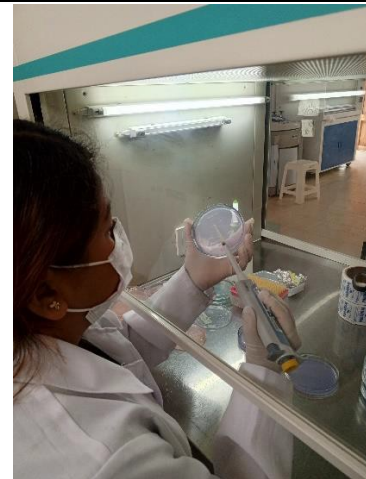
**Anexo 1A.** Prueba tinción de Gram.



**Anexo 2A.** Prueba de catalasa.



**Anexo 3A.** Prueba de Antibiograma.



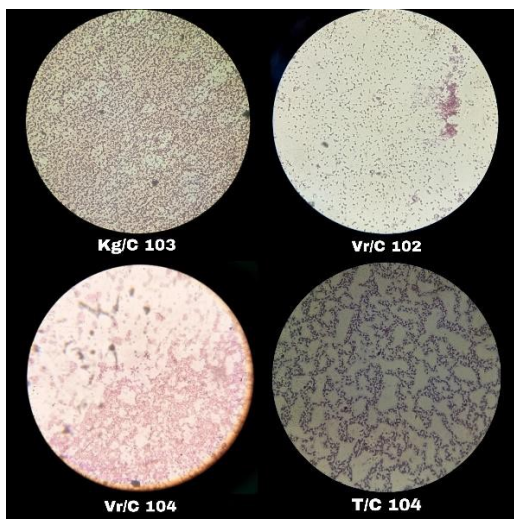
**Anexo 4A.** Siembra de las cepas para variar el pH en azul de Bromotimol.



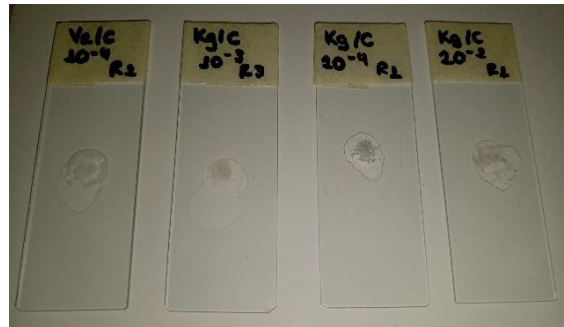
**Anexo 5A.** Inoculación de las cepas a las semillas.



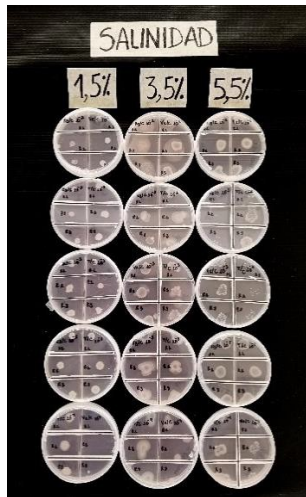
**Anexo 6A.** Preparación del mix de las cepas.



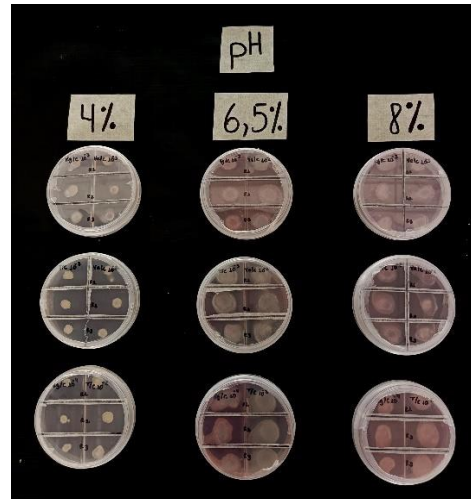
**Anexo 7A.** Respuesta de las bacterias a la prueba de tinción de Gram.



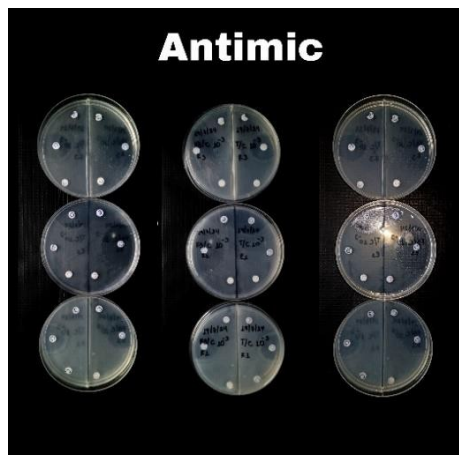
**Anexo 8A.** Reacción a la prueba de catalasa.



**Anexo 9A.** Reacción de las cepas a los tres diferentes niveles de salinidad.



**Anexo 10A.** Respuesta de las cepas a diferentes niveles de pH.



**Anexo 11A.** Respuesta de las bacterias a la prueba antimic o antibiograma.



**Anexo 12A.** Reacción de las cepas bacterianas a la prueba viraje del pH en azul de Bromotimol.

**Anexo 13A.** 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 (Vr/C 103 x T/C 102)	6	22,25	40,83	17,83	5,48	7,83	0,33
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	7,5	28,92	44,37	13,7	5,62	28,92	0,42
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	6,83	28,92	42,62	13,7	5,62	28,92	0,42
T4 (T/C 105 x VR/C104)	6	5,47	36,83	18,42	5,47	20,67	0,4
T5 Control (A-E)	8	16,17	69,25	13,92	5,07	8,17	0,3
T6 Control (Quimico-Yaravita)	4,5	21,05	34,3	13,17	7,33	7,92	0,35

**Anexo 14A.** 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 (Vr/C 103 x T/C 102)	3	16,5	29,33	12,72	8,93	7,17	0,37
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	2,5	19,25	32,05	12,55	8,83	9,18	0,35
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	5,33	17,88	36,78	13,92	8,87	9,18	0,4
T4 (T/C 105 x VR/C104)	4,67	21,2	48,38	15,87	7,5	11,07	0,3
T5 Control (A-E)	4	17,17	33,92	14,75	5,73	6,6	0,3
T6 Control (Quimico-Yaravita)	5	22,33	33,58	11,25	9	8,42	0,4



**Anexo 15A.** Efecto de la inoculación de cepas bacterianas en el crecimiento de plántulas de frijolillo.

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>N° de hojas</b>	<b>Longitud del tallo (cm)</b>	<b>Largo de la planta (cm)</b>	<b>Longitud radicular (cm)</b>	<b>Ancho de la hoja (cm)</b>	<b>Largo de la hoja (cm)</b>	<b>Diámetro del tallo (cm)</b>
<b>T1 (Vr/C 103 x T/C 102)</b>	3	8,25	13,33	4,75	3,58	3	0,37
<b>T2 (Vr/C 102 x T/C103)</b>	2,67	7,75	12,42	4,75	2,73	2,92	0,37
<b>T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)</b>	2,17	8,17	14,35	3,53	0,92	2,68	0,1
<b>T4 (T/C 105 x VR/C104)</b>	2	6,72	14,98	6,75	1,22	2,98	0,1
<b>T5 Control (A-E)</b>	1,83	8,42	14,17	5,42	1,2	1,5	0,2
<b>T6 Control (Quimico-Yaravita)</b>	2	6,75	11,17	3,92	2,2	1,5	0,22

## Anexo 16A. Descripción del análisis de la varianza en el cultivo de frijol rojo.

### Análisis de la varianza

#### Nº de hojas

##### Frejol Rojo

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Rojo	18	0,59	0,42	17,93

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	23,57	5	4,71	3,50	0,0350
Tratamientos	23,57	5	4,71	3,50	0,0350
Error	16,17	12	1,35		
Total	39,74	17			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,18327

Error: 1,3472 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T5 Control (A-E)	8,00	3	0,67 A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	7,50	3	0,67 A B
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	6,83	3	0,67 A B
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	6,00	3	0,67 A B
T4 (T/C 105 x VR/C104)	6,00	3	0,67 A B
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	4,50	3	0,67 B

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

#### Ancho de la hoja

##### Frejol Rojo

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Rojo	18	0,27	0,00	25,20

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9,48	5	1,90	0,90	0,5126
Tratamientos	9,48	5	1,90	0,90	0,5126
Error	25,32	12	2,11		
Total	34,79	17			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,98339

Error: 2,1096 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	7,33	3	0,84 A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	5,62	3	0,84 A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	5,62	3	0,84 A
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	5,48	3	0,84 A
T4 (T/C 105 x VR/C104)	5,47	3	0,84 A
T5 Control (A-E)	5,07	3	0,84 A

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

#### Largo de la hoja

##### Frejol Rojo

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Rojo	18	0,97	0,95	12,87

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1625,98	5	325,20	67,39	<0,0001
Tratamientos	1625,98	5	325,20	67,39	<0,0001
Error	57,91	12	4,83		
Total	1683,88	17			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,02451**

Error: 4,8254 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	28,92	3	1,27	A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	28,92	3	1,27	A
T4 (T/C 105 x VR/C104)	20,67	3	1,27	B
T5 Control (A-E)	8,17	3	1,27	C
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	7,92	3	1,27	C
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	7,83	3	1,27	C

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

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Rojo	18	0,94	0,92	11,74

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1169,45	5	233,89	40,55	<0,0001
Tratamientos	1169,45	5	233,89	40,55	<0,0001
Error	69,22	12	5,77		
Total	1238,67	17			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,58695**

Error: 5,7685 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	28,92	3	1,39	A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	28,92	3	1,39	A
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	22,25	3	1,39	B
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	21,05	3	1,39	B
T5 Control (A-E)	16,17	3	1,39	B
T4 (T/C 105 x VR/C104)	5,47	3	1,39	C

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

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Rojo	18	0,59	0,42	14,44

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	82,58	5	16,52	3,47	0,0361
Tratamientos	82,58	5	16,52	3,47	0,0361
Error	57,20	12	4,77		
Total	139,78	17			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,98755**

Error: 4,7664 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T4 (T/C 105 x VR/C104)	18,42	3	1,26 A
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	17,83	3	1,26 A
T5 Control (A-E)	13,92	3	1,26 A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	13,70	3	1,26 A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	13,70	3	1,26 A
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	13,17	3	1,26 A

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

### Largo de la planta Frejol Rojo

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Rojo	18	0,92	0,88	9,47

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2376,45	5	475,29	26,53	<0,0001
Tratamientos	2376,45	5	475,29	26,53	<0,0001
Error	214,96	12	17,91		
Total	2591,41	17			

### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=11,60764

Error: 17,9135 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T5 Control (A-E)	69,25	3	2,44 A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	44,37	3	2,44 B
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	42,62	3	2,44 B
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	40,83	3	2,44 B
T4 (T/C 105 x VR/C104)	36,83	3	2,44 B
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	34,30	3	2,44 B

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

### Diámetro Frejol Rojo

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Rojo	18	0,78	0,69	7,81

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,04	5	0,01	8,57	0,0012
TRATAMIENTOS	0,04	5	0,01	8,57	0,0012
Error	0,01	12	8,3E-04		
Total	0,05	17			

### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,07917

Error: 0,0008 gl: 12

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T5 Control (A-E)	0,30	3	0,02 A
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	0,33	3	0,02 A
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	0,35	3	0,02 A B C
T4 (T/C 105 x VR/C104)	0,40	3	0,02 B C
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	0,42	3	0,02 C
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	0,42	3	0,02 C

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

## Anexo 17A. Descripción del análisis de la varianza en el cultivo de frijol mantequilla

### N° de hojas

#### Frejol Mantequilla

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Mantequilla	18	0,66	0,51	13,00

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	25,74	5	5,15	4,59	0,0143
Tratamientos	25,74	5	5,15	4,59	0,0143
Error	13,46	12	1,12		
Total	39,20	17			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,90478

Error: 1,1218 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T6 Control (Quimico-Yaravi..	9,00	3	0,61	A
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	8,93	3	0,61	A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	8,87	3	0,61	A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	8,83	3	0,61	A
T4 (T/C 105 x VR/C104)	7,50	3	0,61	A B
T5 Control (A-E)	5,73	3	0,61	B

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

### Ancho de la hoja

#### Frejol Mantequilla

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Mantequilla	18	0,66	0,51	13,00

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	25,74	5	5,15	4,59	0,0143
Tratamientos	25,74	5	5,15	4,59	0,0143
Error	13,46	12	1,12		
Total	39,20	17			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,90478

Error: 1,1218 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T6 Control (Quimico-Yaravi..	9,00	3	0,61	A
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	8,93	3	0,61	A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	8,87	3	0,61	A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	8,83	3	0,61	A
T4 (T/C 105 x VR/C104)	7,50	3	0,61	A B
T5 Control (A-E)	5,73	3	0,61	B

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

### Largo de la hoja

#### Frejol Mantequilla

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Mantequilla	18	0,42	0,18	24,57

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	38,56	5	7,71	1,73	0,2033
Tratamientos	38,56	5	7,71	1,73	0,2033
Error	53,63	12	4,47		
Total	92,19	17			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,79777**

Error: 4,4690 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T4 (T/C 105 x VR/C104)	11,07	3	1,22 A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	9,18	3	1,22 A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	9,18	3	1,22 A
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	8,42	3	1,22 A
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	7,17	3	1,22 A
T5 Control (A-E)	6,60	3	1,22 A

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

**Largo del tallo**

**Frejol Mantequilla**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Mantequilla	18	0,57	0,39	11,90

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	80,56	5	16,11	3,13	0,0489
Tratamientos	80,56	5	16,11	3,13	0,0489
Error	61,76	12	5,15		
Total	142,31	17			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,22156**

Error: 5,1463 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	22,33	3	1,31 A
T4 (T/C 105 x VR/C104)	21,20	3	1,31 A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	19,25	3	1,31 A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	17,88	3	1,31 A
T5 Control (A-E)	17,17	3	1,31 A
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	16,50	3	1,31 A

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

**Largo de la raíz**

**Frejol Mantequilla**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Mantequilla	18	0,43	0,19	15,90

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	41,75	5	8,35	1,81	0,1853
Tratamientos	41,75	5	8,35	1,81	0,1853
Error	55,35	12	4,61		
Total	97,09	17			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,88983**

Error: 4,6121 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T4 (T/C 105 x VR/C104)	15,87	3	1,24 A
T5 Control (A-E)	14,75	3	1,24 A

T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	13,92	3	1,24	A
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	12,72	3	1,24	A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	12,55	3	1,24	A
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	11,25	3	1,24	A

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

**Largo de la planta**  
**Frejol Mantequilla**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Mantequilla	18	0,74	0,62	12,58

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	670,66	5	134,13	6,66	0,0034
Tratamientos	670,66	5	134,13	6,66	0,0034
Error	241,66	12	20,14		
Total	912,33	17			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=12,30747**

Error: 20,1386 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
T4 (T/C 105 x VR/C104)	48,38	3	2,59	A	
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	36,78	3	2,59	A	B
T5 Control (A-E)	33,92	3	2,59		B
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	33,58	3	2,59		B
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	32,05	3	2,59		B
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	29,33	3	2,59		B

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

**Diámetro**

**Frejol Mantequilla**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frejol Mantequilla	18	0,72	0,61	8,84

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,03	5	0,01	6,31	0,0043
TRATAMIENTOS	0,03	5	0,01	6,31	0,0043
Error	0,01	12	9,7E-04		
Total	0,04	17			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,08551**

Error: 0,0010 gl: 12

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
T4 (T/C 105 x VR/C104)	0,30	3	0,02	A	
T5 Control (A-E)	0,30	3	0,02	A	
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	0,35	3	0,02	A	B
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	0,37	3	0,02	A	B
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	0,40	3	0,02		B
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	0,40	3	0,02		B

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

## Anexo 18A. Descripción del análisis de la varianza en el cultivo de frijolillo.

### N° de hojas

#### Frijolillo

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frijolillo	18	0,39	0,14	74,03

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	16,52	5	3,30	1,55	0,2480
Tratamientos	16,52	5	3,30	1,55	0,2480
Error	25,65	12	2,14		
Total	42,18	17			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,00979

Error: 2,1376 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	3,58	3	0,84 A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	2,73	3	0,84 A
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	2,20	3	0,84 A
T4 (T/C 105 x VR/C104)	1,22	3	0,84 A
T5 Control (A-E)	1,20	3	0,84 A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	0,92	3	0,84 A

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

### Ancho de la hoja

#### Frijolillo

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frijolillo	18	0,39	0,14	74,03

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	16,52	5	3,30	1,55	0,2480
Tratamientos	16,52	5	3,30	1,55	0,2480
Error	25,65	12	2,14		
Total	42,18	17			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,00979

Error: 2,1376 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	3,58	3	0,84 A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	2,73	3	0,84 A
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	2,20	3	0,84 A
T4 (T/C 105 x VR/C104)	1,22	3	0,84 A
T5 Control (A-E)	1,20	3	0,84 A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	0,92	3	0,84 A

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

### Largo de la hoja

#### Frijolillo

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frijolillo	18	0,58	0,41	28,54



**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7,99	5	1,60	3,32	0,0411
Tratamientos	7,99	5	1,60	3,32	0,0411
Error	5,78	12	0,48		
Total	13,76	17			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,90257**

Error: 0,4813 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	3,00	3	0,40 A
T4 (T/C 105 x VR/C104)	2,98	3	0,40 A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	2,92	3	0,40 A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	2,68	3	0,40 A
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	1,50	3	0,40 A
T5 Control (A-E)	1,50	3	0,40 A

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

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frijolillo	18	0,58	0,41	9,41

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8,71	5	1,74	3,34	0,0405
Tratamientos	8,71	5	1,74	3,34	0,0405
Error	6,27	12	0,52		
Total	14,97	17			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,98164**

Error: 0,5221 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T5 Control (A-E)	8,42	3	0,42 A
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	8,25	3	0,42 A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	8,17	3	0,42 A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	7,75	3	0,42 A
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	6,75	3	0,42 A
T4 (T/C 105 x VR/C104)	6,72	3	0,42 A

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

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frijolillo	18	0,57	0,39	22,90

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19,67	5	3,93	3,19	0,0464
Tratamientos	19,67	5	3,93	3,19	0,0464
Error	14,82	12	1,23		
Total	34,48	17			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,04729**

Error: 1,2346 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T4 (T/C 105 x VR/C104)	6,75	3	0,64 A

T5 Control (A-E)	5,42	3	0,64	A	B
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	4,75	3	0,64	A	B
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	4,75	3	0,64	A	B
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	3,92	3	0,64	A	B
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	3,53	3	0,64		B

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

### Largo de la planta

#### Frijolillo

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frijolillo	18	0,41	0,16	14,21

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	29,87	5	5,97	1,65	0,2215
Tratamientos	29,87	5	5,97	1,65	0,2215
Error	43,51	12	3,63		
Total	73,38	17			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,22215

Error: 3,6257 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T4 (T/C 105 x VR/C104)	14,98	3	1,10 A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	14,35	3	1,10 A
T5 Control (A-E)	14,17	3	1,10 A
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	13,33	3	1,10 A
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	12,42	3	1,10 A
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	11,17	3	1,10 A

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

### Diámetro

#### Frijolillo

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Frijolillo	18	0,96	0,94	12,83

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,22	5	0,04	51,90	<0,0001
TRATAMIENTOS	0,22	5	0,04	51,90	<0,0001
Error	0,01	12	8,3E-04		
Total	0,23	17			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,07917

Error: 0,0008 gl: 12

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T4 (T/C 105 x VR/C104)	0,10	3	0,02 A
T3 (Kg/C 104 x Kg/C 105)	0,10	3	0,02 A
T5 Control (A-E)	0,20	3	0,02 B
T6 Control (Quimico-Yaravi..)	0,22	3	0,02 B
T1 (Vr/C 103 x T/C 102)	0,37	3	0,02 C
T2 (Vr/C 102 x T/C103)	0,37	3	0,02 C

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

Anexo 19A. Crecimiento de los tratamientos del frijol rojo.



Anexo 20. Crecimiento de los tratamientos del frijol mantequilla.



Anexo 21. Crecimiento de los tratamientos del frijolillo.

