



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

**MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS EN EL CULTIVO DE CAÑA DE
AZÚCAR (*Saccharum officinarum* L.) COMUNA DE RÍO VERDE, PROVINCIA DE
SANTA ELENA.**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
MODALIDAD: TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR-PROYECTOS DE
INVESTIGACIÓN.**

Requisito parcial para la obtención del título de:

INGENIERA AGROPECUARIA

Autor: Maybe Marina Reyes Moreira

LA LIBERTAD, 2024



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

**MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS EN EL CULTIVO DE CAÑA DE
AZÚCAR (*Saccharum officinarum* L.) COMUNA DE RÍO VERDE, PROVINCIA DE
SANTA ELENA**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
MODALIDAD: TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR-PROYECTOS DE
INVESTIGACIÓN.**

Requisito parcial para la obtención del título de:

INGENIERA AGROPECUARIA

Autor/a: Maybebe Marina Reyes Moreira

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

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Maybe Marina Reyes Moreira** como requisito parcial para la obtención del grado de Ingeniero/a Agropecuario de la Carrera de Agropecuaria.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 11/12/2024 (Día, mes, año)

**DANIEL
ANTONIO
PONCE
DE LEON
LIMA**
Firmado electrónicamente por:
DANIEL ANTONIO PONCE DE LEON LIMA
CARRERA DE INGENIERO EN AGROPECUARIA
CENTRO DE INVESTIGACIONES Y DESARROLLO TECNOLÓGICO
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
CALLE 1000 N. PUNO
TEL: 051 944 222 222

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

Ing. Daniel Ponce De León, Ph.D
**PROFESORA ESPECIALISTA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



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



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

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

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



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

Ing. Washington Perero
**ASISTENTE ADMINISTRATIVO
SECRETARIO**

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a Dios, por otorgarme la sabiduría y el entendimiento necesarios para superar cada desafío durante mi carrera. Su fortaleza ha sido mi guía en cada etapa del proceso. Toda gloria, honra y honor sean para Él.

A mis padres, Zoila Moreira y Abel Reyes, les agradezco profundamente por creer en mí, por su constante motivación y por ser los pilares que me han sostenido en cada paso. Gracias por orientarme y enseñarme a ser mejor cada día, y por impulsarme a seguir adelante con mis estudios.

Extiendo mi gratitud a mi tutor, Blgo. Javier Soto Valenzuela, por su dedicación, las valiosas enseñanzas que me brindó y por su constante orientación durante mi investigación.

A mis compañeros de vida, Christian Villamar y Kael Villamar, quiero expresarles mi más profundo agradecimiento. A ti, Christian, mi esposo, por ser mi apoyo incondicional, por estar a mi lado en cada momento, brindándome amor, paciencia y fuerza para seguir adelante. Gracias por ser mi compañero, mi amigo y el pilar sobre el que construimos nuestros sueños juntos.

A ti, Kael, mi querido hijo, por tu alegría y tu luz. Gracias por ser mi fuente constante de inspiración y por enseñarme a ver la vida con ojos llenos de esperanza y amor. Ambos han sido mi motor y mi razón para seguir luchando y superando cada reto.

Sin su apoyo, amor y compañía, este logro no habría sido posible. Gracias por ser mi fuerza y mi todo.

A mis compañeros y futuros colegas, Erika, Narcisa, Abel y Adrián les agradezco enormemente por su ayuda incondicional y su apoyo desinteresado. Su compañía fue fundamental en cada paso del camino.

Finalmente, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a la Universidad Estatal Península de Santa Elena. Culmino con satisfacción mi investigación, un logro que no habría sido posible sin el apoyo y la formación recibida en esta institución. Gracias a todos los docentes por su dedicación y guía, y a la universidad por abrirme las puertas al conocimiento y al desarrollo personal.

DEDICATORIA

A Dios, por brindarme sabiduría, entendimiento y fortaleza en cada etapa de este proceso.

A mis padres, Zoila Moreira y Abel Reyes, quienes han sido mi fuente constante de inspiración y apoyo incondicional. Su amor, dedicación y enseñanzas han sido los pilares fundamentales en mi camino hacia el éxito. Este logro es un reflejo de su legado y de los valores que con tanto amor me han inculcado.

A mis hermanos Cristina y Bryan, por ser mi fuente de motivación, guía y por estar siempre a mi lado, apoyándome con su cariño y sabiduría. Les agradezco profundamente por su presencia inquebrantable en mi vida.

Y, finalmente, a mi esposo, Christian Villamar, y a mi hijo, Kael Villamar, gracias por iluminar mi camino con tu alegría y por darme fuerzas cada día para seguir adelante. Este logro es tanto mío como de ustedes, porque sin su amor, apoyo y dedicación, no habría sido posible.

RESUMEN

Los microorganismos de la rizosfera son esenciales para la sostenibilidad de los ecosistemas, ya que participan en el ciclado de nutrientes y la salud del suelo. Este estudio se centra en la identificación de microorganismos en la rizosfera del cultivo de caña de azúcar cultivada en el centro de apoyo Río Verde, provincia de Santa Elena; debido a que los microorganismos rizosféricos desempeñan un papel crucial en la nutrición de las plantas. Los objetivos del estudio incluyen identificar, cuantificar y aislar microorganismos presentes en un *Saccharum officinarum*. morfo-bioquímicas para el aislamiento y caracterización de las muestras de suelo colectadas mostraron la presencia de 11 cepas con características rizobacterias, y de géneros de hongos como *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp y *Alternaria* sp. Esta evidencia de microorganismos del cultivo de caña de azúcar, podrían tener potencial para mejorar la salud del suelo y promover el crecimiento vegetal de prácticas agrícolas sostenibles que optimicen el uso de microorganismos beneficiosos.

Palabra Clave: Análisis físico, químico y microbiológico, género

ABSTRACT

Rhizosphere microorganisms are essential for ecosystem sustainability, as they participate in nutrient cycling and soil health. This study focuses on the identification of microorganisms in the rhizosphere of sugarcane cultivation grown in the Río Verde support center, Santa Elena province; because rhizospheric microorganisms play a crucial role in plant nutrition. The objectives of the study include identifying, quantifying and isolating microorganisms present in a *Saccharum officinarum*. Morpho-biochemical analysis for the isolation and characterization of the collected soil samples showed the presence of 11 strains with rhizobacterial characteristics, and fungal genera such as *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp and *Alternaria* sp. This evidence of microorganisms from sugarcane cultivation could have the potential to improve soil health and promote plant growth through sustainable agricultural practices that optimize the use of beneficial microorganisms.

Keyword: Physical, chemical and microbiological analysis, gender.

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

El presente Trabajo de Integración Curricular titulado “**MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS EN EL CULTIVO DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum* L.) COMUNA DE RÍO VERDE, PROVINCIA DE SANTA ELENA**” y elaborado por **Maybe Marina Reyes Moreira**, 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".



Firmado electrónicamente por:
**MAYBBE MARINA REYES
MOREIRA**

Firma del estudiante

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| Problema Científico..... | 2 |
| Justificación..... | 2 |
| Objetivos..... | 2 |
| Objetivo General..... | 2 |
| Objetivos Específicos..... | 3 |
| Hipótesis | 3 |
| CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 4 |
| 1.1 Origen de la Caña de Azúcar | 4 |
| 1.2 La caña de azúcar en Ecuador | 5 |
| 1.3 Clasificación taxonómica | 5 |
| 1.4 Descripción botánica | 6 |
| 1.4.1 Sistema radicular..... | 6 |
| 1.4.2 Tallo..... | 7 |
| 1.4.3 Nudo | 7 |
| 1.4.4 Entrenudo..... | 7 |
| 1.4.5 Hojas..... | 7 |
| 1.4.6 Flor..... | 8 |
| 1.5 Variedades..... | 8 |
| 1.6 Requerimientos climáticos | 9 |
| 1.6.1 Temperatura | 9 |
| 1.6.2 Humedad relativa..... | 9 |
| 1.6.3 Radiación solar | 9 |
| 1.6.4 Riegos | 9 |
| 1.7 Requerimientos nutricionales | 10 |
| 1.8 Suelo en el cultivo de la caña de azúcar..... | 10 |
| 1.9 Microorganismo del suelo..... | 11 |
| 1.9.1 Plagas..... | 11 |
| 1.9.2 Enfermedades..... | 11 |
| 1.10 Estudios sobre rizobacterias en el cultivo de Caña de azúcar | 12 |
| 1.11 Muestreos de suelos | 12 |

| | | |
|-------------|---|-----------|
| 1.12 | Tipos de muestreos del suelo | 12 |
| 1.12.1 | Muestreo simple | 12 |
| 1.12.2 | Muestreo compuesto..... | 13 |
| 1.13 | Profundidad de muestreos de suelos..... | 13 |
| 1.14 | Esquema del muestreo del suelo..... | 13 |
| 1.14.1 | Recorrido en X..... | 13 |
| 1.14.2 | Recorrido en zigzag..... | 14 |
| 1.15 | Rizobacterias aisladas del cultivo caña de azúcar..... | 14 |
| 1.15.1 | Tipos Efectivos de PGPR..... | 14 |
| 1.15.1.1 | Pseudomonas fluorescens | 14 |
| 1.15.1.2 | Bacillus spp..... | 15 |
| 1.15.1.3 | Azospirillum spp..... | 15 |
| 1.15.1.4 | Burkholderia cepacia | 15 |
| 1.15.1.5 | Stenotrophomonas maltophilia | 15 |
| | CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 16 |
| 2.1 | Caracterización del área | 16 |
| 2.2 | Condiciones climáticas | 16 |
| 2.2.1 | Características del suelo..... | 17 |
| 2.3 | Material biológico y condiciones experimentales..... | 17 |
| 2.3.1 | Procesamiento analítico de datos | 17 |
| 2.4 | Materiales, equipos y reactivos..... | 18 |
| 2.4.1 | Material de campo para recolecta de muestras | 18 |
| 2.4.2 | Material de laboratorio..... | 18 |
| 2.4.3 | Equipos de laboratorio | 19 |
| 2.4.4 | Insumos y reactivos..... | 19 |
| 2.5 | Tipo de investigación | 19 |
| 2.6 | Diseño de investigación..... | 20 |
| 2.6.1 | Diseño experimental | 20 |
| 2.7 | Manejo del experimento..... | 20 |
| 2.7.1 | Fase de campo..... | 20 |
| 2.7.1.1 | Muestreo de suelo..... | 20 |
| 2.7.1.2 | Muestreo de suelo rizosférico..... | 20 |
| 2.7.1.3 | Fase de laboratorio | 21 |
| 2.7.2 | Almacenamiento y conservación de las muestras..... | 21 |
| 2.7.3 | Esterilización de materiales | 22 |
| 2.7.4 | Preparación de muestras para aislar microorganismos | 22 |
| 2.7.5 | Procedimiento de preparación de medio de cultivo | 22 |
| 2.7.5.1 | Preparación medio de cultivo (PDA)..... | 22 |

| | | |
|---|---|-----------|
| 2.7.5.2 | Preparación medio de cultivo LMA | 23 |
| 2.7.6 | Siembra de microorganismo en cajas Petri | 23 |
| 2.8 | Incubación para el crecimiento de microhongos y bacterias | 23 |
| 2.9 | Pruebas para la identificación morfológica de microhongos y bacterias | 24 |
| 2.9.1.1 | Azul de lactofenol..... | 24 |
| 2.9.1.2 | Tinción de Gram..... | 24 |
| 2.9.1.3 | Catalasa | 24 |
| 2.10 | Parámetros a evaluar | 24 |
| 2.10.1 | Cuantificación de microorganismos expresados UFC/g suelo seco | 24 |
| 2.10.2 | Morfología de microorganismos | 24 |
| 2.10.2.1 | Tinción de Gram | 24 |
| 2.10.2.2 | Catalasa..... | 25 |
| 2.10.2.3 | Uso de claves taxonómicas y tecnología IA | 25 |
| 2.11 | Análisis de los resultados | 25 |
| CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | | 26 |
| 3.1 | Muestreo de suelo | 26 |
| 3.2 | Análisis de suelo | 26 |
| 3.3 | Recuento de hongos del suelo en los cultivos de Caña de Azúcar | 27 |
| 3.4 | Recuento de bacterias de suelo en el cultivo de caña de azúcar | 28 |
| 3.5 | Aislamiento de cepas bacterianas..... | 30 |
| 3.6 | Identificación y caracterización morfo-bioquímicas de aislados bacteriano..... | 32 |
| 3.7 | Identificación de hongos del suelo en el cultivo de caña de azúcar | 34 |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | | 36 |
| Conclusiones..... | | 36 |
| Recomendaciones..... | | 36 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | | 37 |
| ANEXOS | | 42 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Variedades de Caña de Azúcar en Ecuador..... | 8 |
| Tabla 2. Descripción del procesamiento analítico de datos..... | 17 |
| Tabla 3. Muestras y submuestras de suelo colectadas en los cultivos de Caña de Azúcar del Centro de Apoyo Río Verde-UPSE..... | 21 |
| Tabla 4. Esquema de diluciones y repeticiones | 23 |
| Tabla 5. Valores del análisis de suelo obtenidos en el área del cultivo de caña de azúcar. 27 | |
| Tabla 6. Caracterización fenotípica y bioquímica de cepas rizosfericas en cultivo de Caña de Azúcar. | 32 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Taxonomía de la Caña de Azúcar. | 6 |
| Figura 2. Recorrido X..... | 13 |
| Figura 3. Recorrido en zigzag. | 14 |
| Figura 4. Imagen del muestreo de suelo realizado. | 16 |
| Figura 5. Procedimiento de la preparación de diluciones para el recuento de microorganismos | 22 |
| Figura 6. Colecta de muestras de suelo en el cultivo de la caña de azúcar, Centro de Apoyo Río Verde UPSE). | 26 |
| Figura 7. Conteo de hongos rizosféricos UFC/g suelo seco, por muestra aislados de la rizosfera de cultivo de caña de azúcar en en Centro de Apoyo Río Verde-UPSE..... | 28 |
| Figura 8. Promedios de conteo de las colonias de bacterias rizosféricas UFC/g suelo seco por muestra, aisladas en el cultivo de caña de azúcar..... | 29 |
| Figura 9. Comparación de los promedios de hongos y bacterias aislados en el cultivo de la caña de azúcar. | 30 |
| Figura 10. Porcentajes de aislados bacterianos de la rizosfera de leguminosas procedentes del centro de Apoyo Río Verde..... | 31 |
| Figura 11. Bacterias rizosféricas aisladas del cultivo de Caña de Azúcar..... | 31 |
| Figura 12. Morfotipos de las cepas en aislada en medio LMA-RC; (A) Muy poco; (B) Poco y (C) Medio. | 33 |
| Figura 13. Imágenes de hongos aislados (A) <i>Aspergillus</i> sp. en dilución 10^{-2} muestra 1, (B) <i>Aspergillus</i> sp. en dilución 10^{-3} muestra 2 y (C), <i>Aspergillus</i> sp. en la dilución 10^{-4} de la muestra 3. | 35 |
| Figura 14. Identidad de hongos (A) <i>Penicillium</i> sp. en dilución 10^{-2} muestra 1, (B) <i>Penicillium</i> sp. en dilución 10^{-3} muestra 2 (C), <i>Alternaria</i> sp. en dilución 10^{-4} muestra 3. | 35 |
| Figura 15. Identidad de hongos (A) <i>Aspergillus</i> sp. en dilución 10^{-2} muestra 1, (B) <i>Penicillium</i> sp. en dilución 10^{-3} muestra 2 (C), <i>Penicillium</i> sp. en dilución 10^{-4} muestra 3. | 35 |

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo 1A.** Análisis de suelo de la muestra del cultivo de Caña de Azúcar.
- Anexo 2A.** Promedios de UFC/g suelo seco (Hongos).
- Anexo 3A.** Promedios de UFC/g suelo seco (Bacterias).
- Anexo 4A.** Colecta de las muestras en Río Verde.
- Anexo 5A.** Reactivos para preparación de PDA y LMA.
- Anexo 6A.** Preparación de diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} .
- Anexo 7A.** Siembra de microorganismo en los medios de cultivo.
- Anexo 8A.** Incubación de muestras para la proliferación de microorganismos.
- Anexo 9A.** Conteo de UFC de bacterias y hongos.
- Anexo 10A.** Pruebas bioquímicas.
- Anexo 11A.** Microhongos rizosfericos aislados del cultivo de Caña de Azúcar.
- Anexo 12A.** Bacterias rizosfericas aisladas del cultivo de Caña de Azúcar.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), dada a su adaptación en diferentes situaciones de versatilidad y ambientales juega un papel primordial en la economía de diversos países del mundo, su cultivo ostenta un valioso porcentaje en la producción de endulzante. El área total de producción es de 19,3 millones de hectáreas en lo que respecta el planeta; donde el continente americano representa el 47,7 % de la producción (Lagos y Catro, 2019).

A partir del cultivo de caña de azúcar se consiguen productos finales como azúcar, fibras, panela, jugos, pulpa para papel, etanol, alcohol para fines industriales, antisépticos, elaboración de licores, residuos sólidos granulados para cocinas domésticas, fertilizantes orgánicos, etc. A nivel mundial, la producción anual es de 1.930 millones de toneladas (t) con un área de 26 millones de ha distribuidas en América 52%, Asia 41%, África 5% y Oceanía 1.8%, con un rendimiento promedio de 73 t/ha (Ramon, 2021). Donde Brasil ocupa el primer lugar con 720 millones de (t) seguido por India y China, estos tres países producen dos tercios de la producción mundial de la caña de azúcar (Yara, 2022).

Por otra parte, el suelo es un medio complejo donde las comunidades microbianas cumplen funciones importantes para el desarrollo de las plantas (Alvarez *et al.*, 2019). Una de las comunidades microbianas con mayor estudio por sus efectos en los cultivos vegetales son la rizobacterias promotoras de crecimiento en las plantas (PGPR) (Soto *et al.*, 2024).

Sin embargo, la producción convencional implica el uso intensivo de agentes agroquímicos cuyos efectos son perjudiciales sobre el medio ambiente. Los sistemas alternativos, como la agricultura orgánica, se han presentado como una forma de producción respetuosa con el medio ambiente. Aun así, los resultados de los diferentes sistemas de cultivo sobre la microbiota asociada a la caña de azúcar, cuyo rol en la salud y crecimiento del cultivo es crucial, y aún son poco explorados (Correa *et al.*, 2022).

En este sentido, la provincia de Santa Elena cuenta con características de suelo y clima ideal para el cultivo de caña de azúcar. Sus condiciones agroecológicas, junto con un manejo adecuado y la disponibilidad de riego, favorecen el desarrollo óptimo de esta planta, convirtiéndola en una opción atractiva para los agricultores. Además, es fundamental considerar el papel de los microorganismos rizosféricos en el cultivo de caña de azúcar,

presencia confirma que estos organismos contribuyen a mejorar la salud del suelo, incrementaría la disponibilidad de nutrientes y potenciar el rendimiento del cultivo, lo que a su vez optimiza la producción y sostenibilidad del cultivo en la región.

Problema Científico

¿La presencia de microorganismo rizosféricos en el cultivo de la caña de azúcar, comuna Rio Verde se podrían detectar mediante técnicas microbiológicas y caracterización de los aislados?

Justificación

El presente trabajo forma parte del proyecto de investigación titulado: Microorganismos rizosféricos en el cultivo de caña de azúcar (*saccharum officinarum* l.) Comuna de río verde, provincia de santa elena, el cual es de gran relevancia debido a que los microorganismos presentes en la rizosfera desempeñan un papel crucial en la nutrición y salud de las plantas, especialmente en los cultivos agrícolas. La rizosfera, como entorno que rodea las raíces de las plantas, constituyen un microecosistema clave donde influyen directamente la disponibilidad de nutrientes, los estimuladores de crecimiento y la salud del suelo.

Este trabajo de investigación pretende contribuir a mejorar el entendimiento de la presencia de microorganismos rizosféricos, que generan beneficios en la estimulación de crecimiento en las plantas, los cuales contribuirían a mejorar la productividad agrícola evitando la aplicación de insumos químicos que afectan los ecosistemas. Al fomentar un enfoque natural y sostenible en la agricultura, se busca no solo aumentar los rendimientos de los cultivos, sino también preservar la biodiversidad y la salud del medio ambiente.

Objetivos

Objetivo General:

- ❖ Evaluar la presencia de microorganismos rizosféricos en el cultivo de caña de azúcar en la comuna Río Verde, provincia de Santa Elena.

Objetivos Específicos:

1. Determinar los factores fisicoquímicos del suelo en el cultivo de caña de azúcar en la comuna Río Verde, donde se aislaron los microorganismos del suelo.
2. Aislar microorganismos rizosféricos mediante medios de cultivo específicos.
3. Identificar los microorganismos patógenos presentes en el cultivo de caña de azúcar.

Hipótesis

Se postula que en el cultivo de la caña de azúcar de la comuna Río Verde presentan microorganismos en su rizosfera.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Origen de la Caña de Azúcar

La caña de azúcar (*Saccharum* spp.) representa un cultivo de gran importancia en la provisión de alimentos e insumos para la industria sucroquímica y bioenergética. El valor económico de este cultivo se basa en tres atributos: (1) es una especie altamente productiva; (2) es muy eficiente en el uso de insumos y recursos productivos; y (3) puede ser procesada de manera local y generar productos con valor agregado, tales como sacarosa, melaza, etanol y energía, todos ellos de fácil manejo, almacenamiento y transporte (Cadena, 2017).

La caña de azúcar es una planta monocotiledónea que pertenece a la familia de las poáceas, un pasto gigante emparentado con el sorgo y el maíz en cuyo tallo se forma y acumula un jugo rico en sacarosa, compuesto que mediante su extracción y cristalización se forma el azúcar, además representa una actividad productiva y posee varios subproductos, entre ellos la producción de energía eléctrica derivada de la combustión del bagazo, alcohol de diferentes grados como carburante o farmacéutico (Loyo, 2018).

El origen de la caña de azúcar es altamente debatido, aun así, se reconoce de manera general su procedencia de la Isla de Nueva Guinea y a *Saccharum robustum* como especie inicial, la misma que existe desde el año 6 mil A.C y a partir del año 3 mil A.C se emplea para la alimentación humana; que posteriormente se extendió a Java, a Sumatra y después a la India Occidental; aunque fueron los chinos los primeros en cultivarla. Actualmente se cultiva en zonas como los trópicos y sub-trópicos, en diferentes condiciones edafoclimáticas; pero se desarrolla mejor en los trópicos donde su característico clima cálido, sus condiciones de humedad y su alta disposición de luz solar, favorecen la producción del cultivo (Pérez et al., 2015).

La acumulación de sacarosa en los tallos es la razón por la que se considera al cultivo de caña de azúcar como uno de los cultivos agroindustriales más importantes en el mundo siendo materia prima de diferentes compuestos, entre los que se encuentra el azúcar, panela, miel, alcohol y biocombustibles como el etanol, adicionalmente en la extracción se obtienen subproductos como fibra, papel, fertilizantes orgánicos y piensos (Asocaña, 2019).

El cultivo de caña de azúcar representa una de las actividades agroindustriales de mayor importancia económica y social a nivel mundial. Actualmente se siembra en alrededor de 110 países, en aproximadamente 25 millones de ha a nivel mundial, y con una producción cercana a los 1.800 millones de toneladas de caña. Su principal uso es la producción de azúcar, siendo la caña de azúcar la encargada de proveer cerca de dos tercios de la producción mundial (FAO, 2019).

1.2 La caña de azúcar en Ecuador

Según la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria (ESPAC, 2021), Ecuador es autosuficiente en la producción de azúcar, ya que las importaciones perjudican negativamente al sector. Guayas lidera las provincias con mayor cultivo de caña de azúcar, con el 88%. Le siguen Imbabura-Carchi (6%), Loja (4%) y Cañar (2%). En Ecuador, la cosecha de caña se realiza principalmente de junio a diciembre, con una colecta del 88% de la producción. Entre 2021 y lo que va del 2022, Ecuador cosechó 6.460.032 Toneladas de caña de azúcar, obteniendo una producción de 11 millones de sacos de azúcar de 50 kilos (524 millones toneladas métricas). Aquello representa un ingreso de USD 204 millones a este sector productivo. En el país hay 131 mil ha de plantaciones del producto.

Cabe recalcar que en Ecuador todo lo que tiene que ver con la caña de azúcar se origina en zonas que fluctúan entre 18 a 35 °C de temperatura. Pero en el caso de la provisión de agua es igual a la del cultivo de evapotranspiración así sea que los niveles de las lluvias varíen entre zonas. Posteriormente en Ecuador no existen varias zonas que se manifiesten a las demandas de los cultivos de caña que concierten suelos fructíferos, luminosidad, topografías, lluvias y oscilación buena de temperaturas, competentes de formar la base física para obtener una gran producción rentable con mucha escala para de esa manera poder satisfacer la demanda internacional y nacional en lo que respecta la caña de azúcar.

1.3 Clasificación taxonómica

La caña de azúcar le corresponde a la familia Poaceae del género *Saccharum*; de las que poseen seis, domesticadas existen cuatro (*S. edule*, *S. barberi*, *S. sinensi* y *S. officinarum*) y silvestres dos (*S. spontanaum* y *S. robustum*). Carlos Linneo el naturalista y científico sueco,

es quien denominó a la caña de azúcar con el alias de *Saccharum officinarum* en lo que corresponde a la taxonomía moderna (Cassalett et al., 2020)

Figura 1. Taxonomía de la Caña de Azúcar.



| Reino | Plantae |
|------------|--------------------------|
| División | Magnoliophyta |
| Clase | Liliopsida |
| Subclase | Commelinidae |
| Orden | Poales |
| Familia | Poaceae |
| Subfamilia | Panicoideae |
| Tribu | Andropogoneae |
| Género | Saccharum |
| Especie | <i>S. officinarum</i> L. |

Fuente: (CONADESUCA, 2020).

1.4 Descripción botánica

El cultivo de caña de azúcar en su ciclo de plantilla tiene un desarrollo vegetativo de duración variable, dado a que depende de la variedad y de la influencia del clima. De la siembra a la cosecha el cultivo puede durar desde catorce y hasta diecisiete meses. En este periodo la caña de azúcar pasa por cuatro etapas: germinación y/o emergencia, amacollamiento o ahijamiento, rápido crecimiento y maduración. En tanto, el desarrollo de las socas (segundo corte de la caña) tiene una duración de 11 a 13 meses y se distinguen tres etapas: brotación y amacollamiento, rápido crecimiento y maduración (FIRA, 2018).

1.4.1 Sistema radicular

Está compuesto por un robusto rizoma, es la parte subterránea de la planta, provee anclaje a través de la misma planta impregna agua del suelo y sales minerales. Tiene dos tipos de raíces: raíces permanentes; germinan de los brotes nuevos, se encuentran con mayor, crecimiento acelerado, porcentaje, volumen y su acrecentamiento va con el crecimiento de la planta, raíces primordiales; son de la caña de la siembra inicial, su periodo de vida no supera los tres meses, son ramificadas y delgadas. Cantidad, edad y longitud de las raíces permanentes dependen de los cultivares, por cierto, tienen características ambientales como humedad que influyen en su desarrollo de la clase de suelo (Cassalett et al., 2020).

1.4.2 Tallo

Es el órgano más importante de la planta, ya que es donde se almacenan los azúcares y de donde se extrae el jugo de caña. La caña de azúcar forma cepas originadas por acumulación de tallos, que se forman de los brotes de los esquejes de siembra y de las yemas de los nuevos brotes bajo el suelo. La cantidad, el grosor del tallo, el color y el tipo de crecimiento del tallo van de acuerdo con la variedad. El largo de los tallos se relaciona en gran parte de las condiciones agroclimáticas de la zona donde se desarrolla y del manejo que se le dé al cultivo. El tallo se denomina primario, secundario o terciario dependiendo de donde se origine (Enciclopedia de Biología, 2022).

1.4.3 Nudo

Es la parte dura y fibrosa del tallo, separa los entrenudos y se encuentra formado por el aro de crecimiento, la cinta de raíces, la marca foliar, el nudo, la yema y el círculo ceroso. El anillo de crecimiento posee un color más claro, a partir de este se origina el entrenudo. La cinta de raíces es un sector pequeño que resalta del nudo en donde se generan las raíces primordiales. La marca foliar o de la vaina, rodea al nudo después que la hoja se desprende. La yema es la parte de mayor importancia da origen a los nuevos tallos, la forma de la yema y su pubescencia son diferentes en las variedades y ambos caracteres se utilizan para el reconocimiento de estas (Cassalett et al., 2020).

1.4.4 Entrenudo

Es la parte del tallo ubicada entre dos nudos, está formado por aro ceroso, estrías, rajadura de corteza y canal de yema. De manera más frecuente de los 21 se suelen encontrar, cilíndrico, abarillado, constreñido, cuneiforme, obconeiforme y curvado (Enciclopedia de Biología, 2022).

1.4.5 Hojas

Estas salen a partir de los nudos y se ubican alternamente a lo largo del tallo, cada hoja está formada por la lámina foliar, que es la estructura más importante en el proceso fotosintético, también por la vaina o yagua de forma tubular, es la parte que envuelve al tallo, la unión entre estas dos se llama lígula. La forma, el color de la lígula, forma de la aurícula,

son particularidades importantes en la distinción de los cultivares de la caña de azúcar (Cassalett et al., 2020).

1.4.6 Flor

La inflorescencia es una panícula sedosa en forma de espiga, formada por el eje principal con articulaciones donde se insertan las espiguillas, una frente a la otra, estas abarcan una flor hermafrodita con tres anteras y un ovario con dos estigmas. Cada flor está circundada de pubescencias largas. En cada ovario hay un ovulo el cual una vez fertilizado, da origen al fruto o cariósipide, esta semilla o fruto es de forma ovalada de 0,5 mm de ancho y 1,5 mm de largo aproximadamente (Cassalett et al., 2020).

1.5 Variedades

La selección de variedades para establecer el cultivo es crítica y tiene un impacto importante en el desarrollo y rendimiento de los cultivos. La elección debe basarse en la experiencia local con el cultivo y pruebas realizadas de los materiales en las condiciones requeridas. El productor debe considerar el potencial de producción de azúcar, la facultad de rebrote, tolerancia o resistencia a plagas y enfermedades, la adaptabilidad al suelo y ubicación, y duración del ciclo de crecimiento. La mayoría de los cultivares tienen un CSS óptimo en una temporada en particular y generalmente se clasifican como tempranas, medianas o tardías (Yara, 2022).

Tabla 1. Variedades de Caña de Azúcar en Ecuador.

| PROVINCIA | VARIEDADES | |
|------------------------------|--------------|---------|
| Carchi | Caleña, | POJ |
| | Negra, | Loca, |
| | Cenizosa, | |
| Imbabura | Morada | |
| | Puerto Rico, | POJ |
| El Oro | negra | |
| | Cubana | blanca |
| Guayas - Los Ríos/ Manabí | Cubana | negra |
| | ECU-01, | ECU-02, |
| | ECU-03, | ECU-04, |

Fuente: (CINCAE, 2022).

1.6 Requerimientos climáticos

1.6.1 Temperatura

Germinación y desarrollo radicular: La temperatura óptima para esta etapa va de 26 a 33°C, si la temperatura es menor debajo de 20°C la germinación y el desarrollo radicular son lentos; **El crecimiento:** La caña de azúcar paraliza su crecimiento cuando la temperatura cae debajo de 15°C o sube arriba de 38°C, siendo la temperatura optima de 3° a 34°C; **Maduración:** Durante este periodo, las temperaturas relativas bajas resultan en aumento de producción y almacenamiento de sacarosa, mientras en crecimiento es reducido (Duarte y González, 2019).

1.6.2 Humedad relativa

Para un buen desarrollo vegetativo se requiere de una humedad relativa alta. Con una humedad relativa baja y riegos ineficientes la planta tiende a madurar (Infoagro, 2015).

1.6.3 Radiación solar

La caña de azúcar se beneficia de la presencia del sol, el macollamiento es influenciado por la intensidad y a duración de la radiación solar, en días nublados o cortos el macollamiento se ve afectado. El desarrollo del tallo aumenta cuando la luz del día se mantiene entre 10 y 14 horas (Duarte y González, 2019).

1.6.4 Riegos

Los requerimientos hídricos del cultivo son de 1200-1500 mm anuales repartidos adecuadamente durante la duración del periodo vegetativo los cuales se deben reducir un mes antes de la cosecha para estimular la producción y almacenamiento de carbohidratos (Infoagro, 2015).

1.7 Requerimientos nutricionales

Las necesidades de nutrientes van a variar dependiendo del rendimiento esperado y del ciclo del cultivo. Las cañas planta en general absorben más nutrientes que los ciclos de cultivo sucesivos. Sin embargo, la caña planta se beneficia más de la mineralización de N y por lo tanto para alcanzar el mismo rendimiento, la demanda de fertilizante N es mayor para un cultivo sucesivo que para una caña planta. Hay diferencias significativas en la utilización de nutrientes de una variedad a otra, en particular con respecto a la absorción de N, y es importante tener en cuenta las diferencias locales. Los estudios efectuados han demostrado que los principales requisitos de nutrientes de la caña de azúcar son nitrógeno, fósforo, magnesio, silicio y azufre. Las cantidades exactas de estos nutrientes dependen del suelo. Otros factores afectarán la cantidad exacta de nutrientes absorbidos (Yara, 2022).

1.8 Suelo en el cultivo de la caña de azúcar

Prefiere los suelos ligeros para alcanzar sus mejores rendimientos, pero sí es cierto que no es un cultivo muy exigente en cuanto a suelo. Únicamente presenta problemas en suelos ácidos y en calizos puede aparecer clorosis.

En definitiva, las mejores condiciones edafoclimáticas para obtener una mayor cantidad de azúcar son: Clima seco, poca humedad, bastante luz solar, noches frescas, precipitaciones o aportaciones hídricas reducidas durante la maduración, amplitud térmica durante el día y suelo de naturaleza ligera. Las propiedades de suelo favorables para el cultivo de caña de azúcar son:

- ❖ **Textura.** Suelos con proporciones adecuadas de los tres componentes, suelo franco-arenoso-arcilloso.
- ❖ **Estructura.** Rugosa que pueda facilitar labores culturales y de buena capacidad para almacenar agua y un adecuado grado de infiltración.
- ❖ **Composición mineral.** La cantidad de los cuatro macrominerales, calcio, nitrógeno, fósforo, potasio, más un adecuado porcentaje de materia orgánica como humus.
- ❖ **Acidez o alcalinidad.** La caña de azúcar admite valores de pH entre 5,5, a 8. Las condiciones idóneas de suelo para el cultivo son suelos con buena profundidad que alcancen de 0,80 a 0,90 metros y buen drenaje natural (Duarte y González, 2019).

1.9 Microorganismo del suelo

1.9.1 Plagas.

- ❖ **Taladro en la caña de azúcar.** Son larvas de colores amarillo con manchas marrones que se transforman en mariposas al interior de la caña y después hacia afuera a través de agujeros hecho por ellos, es de difícil control.
- ❖ **Pulgones.** Además de los daños causados en la caña de azúcar son vectores que transmiten enfermedades. Los controles más adecuados son la limpieza en cañaverales, viveros y usos de spray de extracto de humo o insecticidas.
- ❖ **Salivazo de la raíz.** Es una plaga que puede ocasionar las pérdidas de las raíces de las cañas, libera un líquido blanquecino esponjoso característico. Se debe cortar las cañas que ya no sirven para la industria.
- ❖ **Termitas.** Estas causan suficiente daño a los cañaverales y se deben combatir con insecticidas colocados en las zanjas de la siembra.

1.9.2 Enfermedades.

- ❖ **Mosaico.** Las hojas de caña de azúcar se tornan de color verde claro con manchas y los pulgones son los mayores transmisores al ser vector de la enfermedad.
- ❖ **Carbón.** Es causada por un hongo, no deja que la planta crezca bien y causa la aparición de hojas finas como un látigo.
- ❖ **Escaldaduras.** Enfermedad causada por una bacteria, los tallos se vuelven con las yemas blanquecinas y un hilo blanco en el centro de las hojas. En plantas a desarrolladas afecta los brotes en las puntas de producción.
- ❖ **Raya moteada.** Es una enfermedad causada por *Pseudomonas rubrisubalbicans*. Los principales síntomas de la enfermedad se expresan con la aparición de rayas paralelas a las nervaduras de las hojas de 0,2 a 0,4 cm de ancho por 5 a 100 cm de largo.
- ❖ **Raya roja.** Enfermedad causada por *Pseudomonas rubrilineans*, que tiene una amplia distribución mundial. Se presenta como un rayado en el follaje o como una pudrición del cogollo (Cassalett et al., 2020).

1.10 Estudios sobre rizobacterias en el cultivo de Caña de azúcar

Las bacterias asociativas estimulan el crecimiento en gramíneas por medio de mecanismos (síntesis de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, fijación de nitrógeno, producción de sideróforo, solubilización de nutrientes y control de fitopatógenos del suelo. Entre los organismos más estudiados tenemos *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Beijerinckia*, *Pseudomonas* y *Bacillus* (Loredo et al., 2004).

Morgado et al. (2015), menciona que las RPCV (Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal) son una alternativa para el buen desarrollo del cultivo de caña de azúcar, incrementando la altura, diámetro de tallo, área foliar, peso de materia seca y raíz.

Borbor (2014), la importancia sobre el uso de rizobacterias en la agricultura, debido a que genera bajos costos de producción en fertilizantes, resaltando que el buen rendimiento y una óptima recuperación del suelo es producida cuando existe una interacción en el fertilizante y bioinoculante.

1.11 Muestreos de suelos

La muestra se define como una forma representativa que permite caracterizar el suelo en estudios, las muestras que se envían al laboratorio constituye muestras elegidas para que sean analizadas con objetivos establecidos. El muestreo de suelo es entendido como la actividad de colecta en un tiempo y en un lugar particular de una cantidad de suelo para fines de análisis de laboratorio, es realizado en campo para fines predefinidos. En general, la muestra de suelo representa las condiciones puntuales del suelo, en el tiempo que fue colectado (FAO, 2018).

1.12 Tipos de muestreos del suelo

1.12.1 Muestreo simple

Es una muestra que se obtiene por una sola extracción del suelo, por lo general son utilizados en programas de investigación, extensión y suelos homogéneos. Se recomienda tomar una muestra de 1 kg por hectárea suelo.

1.12.2 Muestreo compuesto

Hace referencia a la muestra de suelos que se consiguen de diversas extracciones o muestras simples, unidas en un recipiente codificado por profundidad, inmediatamente se mezclan y se extrae 1 kg de suelo. Este el muestreo más utilizado con fines de fertilización se recomienda entre seis y doce submuestras por unidad de muestreo.

1.13 Profundidad de muestreos de suelos

La profundidad de suelo adecuada está dada por el tipo de cultivo, por lo que se recomiendan las siguientes profundidades.

Pastos de pastoreo – 0 a 10 cm.

Cultivos comerciales y pastos de corte – 0 a 25 cm.

Para frutales y especies forestales – 0 a 25 y 25 a 50 cm.

1.14 Esquema del muestreo del suelo

Los recorridos de campo con fines de muestreo de fertilidad de suelo pueden ser: aleatorio simple, aleatorio estratificado, en cuadrícula, en X y en zigzag, siendo estos últimos los más utilizados.

1.14.1 Recorrido en X

Consiste en recolectar las muestras en forma de X, en cada lote de la finca. Se deben colocar de extremo (esquina) de un lote donde se realizará la muestra hasta los otros extremos opuestos como se muestra en la (Figura 2).

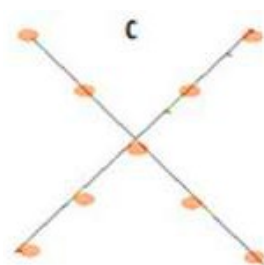


Figura 2. Recorrido X.

1.14.2 Recorrido en zigzag

Una vez seleccionado el lote, otra forma de recolectar las submuestras en el campo es en zigzag; consiste en líneas cruzadas caminando unos 25 a 30 pasos desde cada punto seleccionado de muestreo. Esto se hace para cada lote definido en la finca. Se recolectan las submuestras posteriormente se mezclan para obtener cada muestra, de manera que sea representativa. Es un procedimiento aplicado en tierras muy homogéneas y planas; típicas en cultivos anuales, pastos y semi perenes. Ejemplo del recorrido en zigzag se muestra en la **Figura 3**.

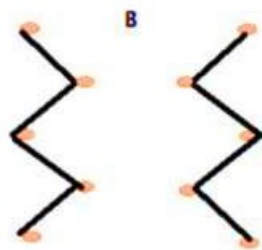


Figura 3. Recorrido en zigzag.

1.15 Rizobacterias aisladas del cultivo caña de azúcar.

Los microorganismos aislados en la rizosfera de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) incluyen **Ochrobactrum anthropi** (cepas N208 y IMP311) y **Pseudomonas luteola** (cepa IMPCA244). Según Morgado et al., (2015), los valores más altos de solubilización de fosfatos fueron obtenidos con *Stenotrophomonas maltophilia*. Además, las especies *P. luteola*, *P. fluorescens*, y *O. anthropi* también mostraron capacidades significativas en este aspecto. Las cepas específicas que se identificaron como efectivas para promover el crecimiento incluyen *P. luteola* IMPCA244, *O. anthropi* IMP311, *Aeromonas salmonicida* N264, *Burkholderia cepacia* N172, *P. fluorescens* N50, y *S. maltophilia* 79 (Mendes et al., 2020). Estas bacterias son consideradas como alternativas viables para mejorar el rendimiento de los cultivos al reducir la dependencia de fertilizantes químicos.

1.15.1 Tipos Efectivos de PGPR

1.15.1.1 *Pseudomonas fluorescens*

Esta bacteria es conocida por su capacidad para producir metabolitos que promueven el crecimiento y actúan como biocontroladores. Se ha demostrado que mejora el crecimiento y

el rendimiento de la caña de azúcar al aumentar la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Paungfoo, et al., 2020).

1.15.1.2 Bacillus spp.

Especies como *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* son reconocidas por su habilidad para solubilizar fosfatos y fijar nitrógeno, lo que resulta en un aumento significativo en el crecimiento de las plantas y su resistencia a enfermedades (Morgado et al., 2015).

1.15.1.3 Azospirillum spp.

Estas bacterias son capaces de fijar nitrógeno atmosférico y se asocian con las raíces de las plantas, mejorando la absorción de nutrientes y promoviendo el crecimiento radicular (Morgado et al., 2015)

.

1.15.1.4 Burkholderia cepacia

Esta especie ha mostrado resultados positivos en términos de aumento del rendimiento y mejora en la salud del suelo, gracias a su capacidad para solubilizar nutrientes y promover interacciones beneficiosas con las raíces (Michavila et al., 2022)

1.15.1.5 Stenotrophomonas maltophilia

Conocida por su eficiencia en la solubilización de fosfatos, esta bacteria ha demostrado ser efectiva para aumentar tanto el peso como el rendimiento de azúcar en caña de azúcar (Morgado et al., 2015)

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Caracterización del área

La colecta de muestras de suelo para realizar la presente investigación se realizó en el Centro de Apoyo Río Verde -UPSE, ubicada en la vía Guayaquil, a 27 km del cantón Santa Elena, cuyas coordenadas geográficas son latitud Sur 2°15'45", longitud Oeste 80°40'17" y con una altitud de 25msnm. El procesamiento de las muestras se realizó en los laboratorios del Centro de Investigaciones Biotecnológicas (CEB-UPSE), ubicado en la Facultad de Ciencias Agrarias, cantón La Libertad provincia de Santa Elena, vía principal Guayaquil-La Libertad, a 27 km del cantón Santa Elena, sus coordenadas geográficas son: latitud Sur 2°14'6", longitud Oeste 80°54'9"



Figura 4. Imagen del muestreo de suelo realizado.

2.2 Condiciones climáticas.

Según Ortega (2018) en esta zona influyen los siguientes parámetros meteorológicos:

- Temperatura: 16-31 °C
- Humedad Relativa: 75%
- Precipitación: Invierno 110 mm/mes y verano 0,2 mm/mes
- Luminosidad: 12-13 horas luz/día

2.2.1 Características del suelo.

El suelo que predomina es la clase textural franco-arcillo-arenosa, tiene gran contribución a la retención de la humedad y de los nutrientes, sin embargo, existen bajos contenidos de materia orgánica, fósforo y potasio; posee un drenaje que va desde bueno hasta moderado tanto en la parte superficial como en la parte interna, no existe gran presencia de piedras ni de rocosidad (Espinosa, 2019).

2.3 Material biológico y condiciones experimentales

El trabajo se realizó en dos fases, una de campo donde las muestras de suelo del cultivo de caña de azúcar (rizosférico) fueron colectadas en el área agrícola del Centro de Apoyo Río Verde, seguida de la fase de proceso en laboratorio en el CEB-UPSE.

2.3.1 Procesamiento analítico de datos.

Para el análisis físico y químico, las muestras obtenidas de los suelos de la rizosfera del cultivo de caña de azúcar en la comuna Río Verde. las cuales fueron enviadas como servicio de análisis al laboratorio del INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias), como se detalla en la **Tabla 2**.

Los datos obtenidos de los conteos de los microorganismos aislados se expresaron en UFC/g suelo seco para su comparación por cada muestra y tipo de microorganismos que se encontraron en los suelos procesados. Con estos datos se elaboraron tablas y gráficos empleando Microsoft Excel.

Tabla 2. Descripción del procesamiento analítico de datos.

| ANÁLISIS | VARIABLE | MÉTODOS |
|----------------|---|----------------------|
| FÍSICO | Clases textural | |
| QUÍMICO | Fertilidad – básico: pH, S, P, K, Ca y Mg | Laboratorio (INIAP) |
| MICROBIOLÓGICO | Aislamiento, conteo e identificación de bacterias | Medio de cultivo LMA |
| | Aislamiento, conteo e identificación de hongos | Medio de cultivo PDA |

2.4 Materiales, equipos y reactivos

2.4.1 Material de campo para recolecta de muestras

Los materiales que se utilizaron para la respectiva investigación de campo fueron las siguientes:

- Fundas Ziploc
- Pala de jardinería
- Pala excavadora doble
- Machete
- Marcador para CD
- Cinta métrica
- Cámara fotográfica

2.4.2 Material de laboratorio

Para realizar el análisis microbiológico del suelo se utilizaron los siguientes implementos:

- Guantes
- Mandil
- Mascarilla
- Muestra de suelo
- Cajas Petri
- Agua destilada
- Alcohol
- Libreta de apuntes
- Papel aluminio
- Espátula
- Matraz
- Pipeta
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Mechero
- Tubos de ensayo

- Gradillas de tubos de ensayo
- Vaso beaker
- Cinta Parafilm
- Asa de platino

2.4.3 Equipos de laboratorio

- Refrigerador
- Contador de colonias
- Autoclave
- Incubadora
- Microscopio
- Cámara de flujo laminar
- Balanza
- Plancha agitadora-calentadora

2.4.4 Insumos y reactivos

- Potato Dextrose Agar
- Extracto de levadura
- Mannitol
- Bacto Agar
- NaCl
- Agua destilada
- K_2HPO_4
- $MgSO_4$
- H_2O_2
- Reactivos para tinción de Gram
- Azul de lactofenol
- Rojo Congo

2.5 Tipo de investigación

Esta propuesta de investigación es experimental descriptiva porque se colectaron datos en un momento temporal, dado que buscó aislar e identificar los microorganismos presentes en la rizosfera en el Centro de Apoyo Río Verde. La recolección de muestras de suelo en cultivo permite establecer un perfil microbiológico sin manipular las variables del entorno natural (Soto-Valenzuela, 2021)

2.6 Diseño de investigación

2.6.1 Diseño experimental

Este estudio en campo y laboratorio incluyó un muestreo de suelo aleatorio para garantizar que las muestras sean representativas de la rizosfera del cultivo de la caña de azúcar. En el laboratorio se emplearon técnicas microbiológicas, como el aislamiento de bacterias y hongos en medios de cultivos selectivos, empleando diluciones seriadas para su identificación y su posterior caracterización, donde se consideró a cada placa Petri como una unidad experimental con tres repeticiones; por lo tanto, este trabajo no tiene diseño experimental.

2.7 Manejo del experimento

2.7.1 Fase de campo

2.7.1.1 Muestreo de suelo

Se realizaron muestreos de suelo aleatorios en el cultivo caña de azúcar en el Centro de Apoyo Río Verde, para el aislamiento de los microorganismos presentes, se recorrió el área destinada al cultivo de caña de azúcar, donde se colectaron las muestras de suelo.

2.7.1.2 Muestreo de suelo rizosférico

Se tomaron muestras alrededor del suelo de tres plantas seleccionadas al azar del cultivo de caña de azúcar. Para ello, se utilizó una pala y se extrajo el suelo a una profundidad de 20 cm. En cada parcela de cultivo de caña de azúcar seleccionada, se recolectaron cuatro submuestras de suelo, las cuales luego se combinaron para formar una muestra compuesta de 1 kg, tal como se detalla en la **Tabla 3**. Las muestras fueron colocadas en bolsas Ziploc,

etiquetadas y transportadas al laboratorio de Ciencias Químicas y Microbiológicas del CEB-UPSE.

Tabla 3. Muestras y submuestras de suelo colectadas en los cultivos de Caña de Azúcar del Centro de Apoyo Río Verde-UPSE.

| CULTIVO | MUESTRAS | SUBMUESTRAS | DESCRIPCIÓN |
|----------------|----------|-------------|--|
| CAÑA DE AZÚCAR | M1 | 4 | 1 kg de suelo seco |
| | M2 | 4 | para análisis microbiológico |
| | M3 | 4 | 1 kg de suelo para análisis físico-químico |

2.7.1.3 Fase de laboratorio

El proceso de análisis microbiológico del suelo comenzó con la preparación adecuada de los materiales, reactivos y equipos necesarios. Se emplearon medios de cultivo específicos para aislar posibles bacterias del tipo PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) y hongos presentes en las muestras de suelo. Para ello, se sembraron las muestras en placas Petri con los medios LMA (Extracto de levadura manitol agar) y PDA (Potato dextrosa agar), para aislar rizobacterias y hongos.

2.7.2 Almacenamiento y conservación de las muestras

(Perero, 2024), las muestras de suelo se dejan secar al aire durante aproximadamente 24 horas para detener los procesos biológicos. Luego, para su almacenamiento, se utilizaron condiciones de refrigeración a 4°C, lo que permitió conservar las muestras hasta el momento de su posterior aislamiento y cuantificación de microorganismos.

2.7.3 Esterilización de materiales

Los materiales y medios de cultivo utilizados para aislar los microorganismos se colocaron en la autoclave, a una temperatura de 121°C por 45 minutos con la finalidad de trabajar con implementos que estén libres de contaminación.

2.7.4 Preparación de muestras para aislar microorganismos

Acorde a Zuñiga (2012), para la preparación de muestras de suelo, se pesaron 10 gr de suelo por cada kg de muestra, después se colocaron en un matraz en 90 mL de solución salina (SS) al 0,85% (muestra madre 10^{-1}), se repitió el proceso con las demás muestras de los sitios colectadas. Luego, se realizaron diluciones seriadas en tubos de ensayo 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} y finalmente se sembraron en los medios dispensados en cajas Petri, repitiendo el proceso hasta la dilución 10^{-5} como se observa en la **Figura 5**.

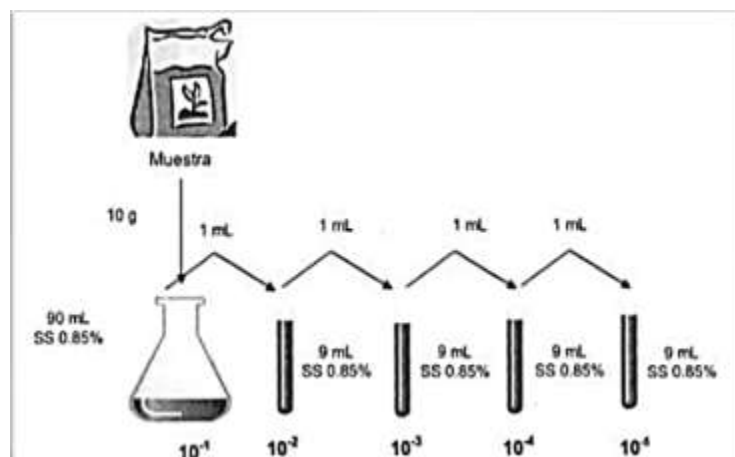


Figura 5. Procedimiento de la preparación de diluciones para el recuento de microorganismos.

2.7.5 Procedimiento de preparación de medio de cultivo

2.7.5.1 Preparación medio de cultivo (PDA)

Panchana (2009) manifiesta que, el PDA es un medio adecuado para realizar el conteo e identificar los hongos presentes en las muestras. Inicialmente se preparó 1000 mL en dos matraces de 500 mL, a los que se agregó 19,5 g de PDA y se diluyó en 500 mL de agua destilada. Luego, se le agregó claritromicina con el fin de evitar la proliferación de

bacterias (Zuñiga, 2012). Después, se colocó en un plato calefactor para homogenizar los medios y finalmente se esterizaron en autoclave.

2.7.5.2 Preparación medio de cultivo LMA

Se utilizó el medio de cultivo extracto de levadura manitol agar (LMA) para el aislamiento de bacterias rizosféricas, se preparó 1000 mL en dos matraces. Se pesarán 5 g de manitol, 0.25 g extracto de levadura, 0.25 g de K₂PO₄, 0.10 NaCl, 7.5 g de agar y 0.05 MgSO₄, los insumos se disolvieron en 500 mL de agua destilada. Luego, se homogenizó y esterilizó.

2.7.6 Siembra de microorganismo en cajas Petri

Se dispensaron aproximadamente 12 mL del medio de cultivo en cada caja Petri rotulándolos de manera adecuada por muestra. Se sembraron 100 microlitros de las diluciones 10⁻², 10⁻³ y 10⁻⁴ de cada muestra en la respectiva caja Petri, con tres repeticiones, distribuyendo homogéneamente en el medio de cultivo, utilizando la técnica de siembra en estrías con asa de siembra (Gómez, 2024). Este procedimiento se repitió para las bacterias y los hongos, como se detalla en la tabla 4

Tabla 4. Esquema de diluciones y repeticiones.

| CULTIVO | MUESTRAS | DILUCIONES | REPETICIONES |
|----------------|----------|---------------------|--------------|
| CAÑA DE AZÚCAR | M1 | M1 10 ⁻² | 3 |
| | | M1 10 ⁻³ | |
| | | M1 10 ⁻⁴ | |
| | M2 | M2 10 ⁻² | |
| | | M2 10 ⁻³ | |
| | | M2 10 ⁻⁴ | |
| | M3 | M3 10 ⁻² | |
| | | M3 10 ⁻³ | |
| | | M3 10 ⁻⁴ | |

2.8 Incubación para el crecimiento de microhongos y bacterias

Las diluciones inoculadas en las placas Petri se incubaron a una temperatura de 28 °C, esta temperatura favorece el crecimiento de los microorganismos. El proceso de incubación se mantuvo durante un periodo de cinco a siete días, con el fin de observar y evaluar la proliferación de las colonias, para luego realizar el conteo.

2.9 Pruebas para la identificación morfológica de microhongos y bacterias

2.9.1.1 Azul de lactofenol

Las muestras obtenidas del cultivo de microhongos se colocaron en un portaobjeto con el asa de siembra esterilizada con un mechero, se colocó una gota de azul de lactofenol para la tinción, luego se montó un cubreobjeto en la platina del microscopio y se observó con los objetivos 4, 10, 40 y 100X (Cepero et al., 2012).

2.9.1.2 Tinción de Gram

Se realizó el frotis de cada colonia bacteriana aislada para luego fijarla con la flama y cubrir con cristal violeta durante 1 minuto, se lavó ligeramente con agua destilada para cubrir con Lugol durante 1 minuto; a continuación se decoloró con alcohol por 30 segundos volviendo a lavar con agua destilada cubriendo con safranina durante 1 minuto, para finalmente secar la muestra y observar al microscopio, es muy conocido que la mayoría de las bacterias tipo PGPR son Gram positivas (Quinzo, 2022).

2.9.1.3 Catalasa

El mismo autor describe que, se realiza el frotis de una colonia aislada sobre un portaobjetos, adicionando entre una o dos gotas de peróxido de hidrógeno, para lograr observar la presencia o ausencia de efervescencia que confirma la existencia de esta enzima.

2.10 Parámetros a evaluar

2.10.1 Cuantificación de microorganismos expresados UFC/g suelo seco

Se evaluó el crecimiento de los microorganismos en los medios de cultivos específicos, empleando el contador de colonias para lograr cuantificarlas y expresarlas como UFC/g suelo seco por cada caja Petri (Zuñiga, 2012).

2.10.2 Morfología de microorganismos

2.10.2.1 Tinción de Gram

Se evaluaron las tinciones en placas portaobjetos de las bacterias Gram positivas y Gram negativas, las muestras fueron llevadas al microscopio y observadas con los lentes oculares de 40X y 100X; cuantificadas mediante porcentaje por cada área de observación (Montero, 2017).

2.10.2.2 Catalasa

Se observó la presencia de efervescencia de la enzima catalasa de cada bacteria aislada. Si la reacción de esta prueba es positiva se evaluó en base a la cantidad de efervescencia producida (MP: Muy Poco, P: Poco, AB: Abundante).

2.10.2.3 Uso de claves taxonómicas y tecnología IA

Se emplearon las claves taxonómicas para identificar las cepas de microhongos aisladas en las cajas Petri y muestras de hifas y micelios observadas al microscopio (Finch y Finch, 1974). Se obtuvieron imágenes de la identificación de cada hongo aislado y purificado, que luego se cargaron en el programa de inteligencia artificial (AI) ChatGTP (<https://chatgpt.com/auth/login>), con instrucciones de análisis y descripción de imágenes.

2.11 Análisis de los resultados

Los resultados de los conteos de las colonias obtenidas (microhongos y bacterias) se procesaron en una hoja de cálculo de Excel (Microsoft) para calcular los promedios de las unidades formadoras de colonias (UFC/g suelo seco), con esta información se elaboraron tablas y gráficos (Gómez, 2024).

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Muestreo de suelo

En la **Figura 6**, se evidencia el muestreo de suelo en un área de 5.000 m² correspondiente al cultivo de caña de azúcar en el centro de apoyo de Río Verde-UPSE, provincia de Santa Elena, colectado Se evaluaron algunas características físico-químicas del suelo y el análisis microbiológico de la rizosfera. Lo cual proporcionó un aporte adicional para mejorar el entendimiento de su rol en el cultivo de *S. officinarum*.



Figura 6. Colecta de muestras de suelo en el cultivo de la caña de azúcar, Centro de Apoyo Río Verde UPSE).

3.2 Análisis de suelo

El análisis de suelo presentó una textura franco-arcillosa, lo que indica una adecuada retención de humedad y nutrientes, favoreciendo el desarrollo radicular de la caña de azúcar. La muestra 1 se observa en la **Tabla 5**, presentó un nivel de pH parcialmente neutro (6.6), niveles altos para los elementos potasio 0.73 cmol kg⁻¹, calcio 17.01 cmol kg⁻¹ y magnesio 6.26 cmol kg⁻¹; pero con bajo nivel de fósforo (P).

Según (Armida, et al., 2020), el cultivo de caña de azúcar con dos manejos (riego y temporal), presentaron un pH 5.8 y 6.6, respectivamente; el suelo con textura arcillosa; en materia orgánica (MO) presentó mayor porcentaje el manejo con riego (6.67%). El mismo manejo presentó contenido de nitrógeno total de 0.13 % y en el cultivo temporal 0.14 %; el

K, en condiciones de riego presentó 0.26 cmol kg⁻¹ y el de temporal 0.37 cmol kg⁻¹; mientras que, en las concentraciones de calcio obtuvo 14.71 cmol kg⁻¹ en el cultivo de temporal, en comparación con el cultivo de riego con 6.74 cmol kg⁻¹. Los resultados de calcio se asemejan a los obtenidos en este trabajo 17.01 cmol kg⁻¹, al igual que en potasio 0,73 cmol kg⁻¹.

Los valores obtenidos en los análisis de suelo en la muestra enviada al laboratorio del INIAP se presentan en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Valores del análisis de suelo obtenidos en el área del cultivo de caña de azúcar INIAP 2024.

| <i>Características de suelo</i> | <i>MI</i> |
|---------------------------------|------------------|
| <i>Textura</i> | Franco Arcilloso |
| <i>Nivel pH</i> | 6.6 PN |
| <i>K (ug/ml)</i> | 286 A |
| <i>Ca (ug/ml)</i> | 3401 A |
| <i>Mg (ug/ml)</i> | 761 A |
| <i>P (ug/ml)</i> | 8 B |

A = Alto, **B**= Bajo, **M**= Medio, **PN**= Prac. neutro.

3.3 Recuento de hongos del suelo en los cultivos de Caña de Azúcar.

Los hongos de las muestras procesadas del suelo de la caña de azúcar en cultivo se aislaron en medio PDA (Potato Dextrosa Agar), expresados en UFC/g suelo seco. En la **Figura 7**, se presentan los promedios obtenidos. La muestra 3 obtuvo 3 UFC/g suelo seco, seguido de la muestra 1, con 2 UFC/g suelo seco y la muestra 2 con 1 UFC/g suelo seco.

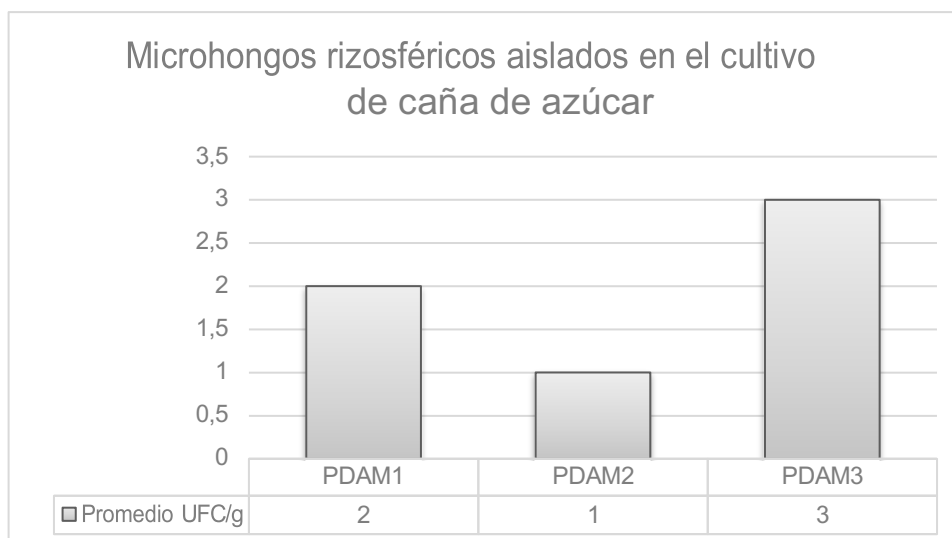


Figura 7. Conteo de hongos rizosféricos UFC/g suelo seco, por muestra aislados de la rizosfera de cultivo de caña de azúcar en en Centro de Apoyo Río Verde-UPSE.

Según Armida et al. (2020), en su estudio obtuvo mayor número de hongo 1.21×10^{12} UFC/g de suelo, pero con diluciones diferentes. Estos resultados podrían atribuirse a condiciones ambientales o características del suelo que favorecen la presencia de microorganismos de tipo fúngico.

3.4 Recuento de bacterias de suelo en el cultivo de caña de azúcar.

Las bacterias en el cultivo de caña de azúcar aisladas a partir de la rizosfera del suelo del cultivo de caña de azúcar se muestran en la **Figura 8**, donde la M1 presentó el mayor conteo, con 210.4 UFC/g, seguido de M2 con 170.7 UFC/g y M3 con 120.3 UFC/g.

En la investigación realizada por Hernández et al. (2020), obtuvieron promedios de 194.3 UFC/g de suelo de bacterias encontradas, resultado muy cercano al encontrado en la M1.

Sin embargo, Senatore (2013) aplicando vinaza en dos sitios, presentó aumento de bacterias heterótrofas $3,26 \times 10^6$, bacterias amonificantes $9,84 \times 10^6$ UFC/g de suelo seco y actinobacterias $3,92 \times 10^6$ UFC/g de suelo seco, en el sitio 1. Sin embargo, dichos resultados solo fueron temporales por algunos meses, volviéndose iguales al tratamiento control.

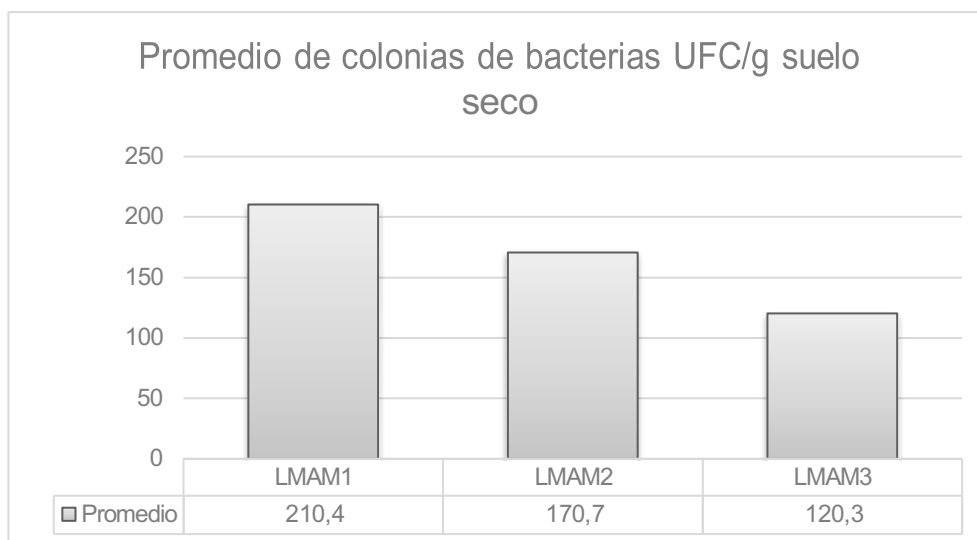


Figura 8. Promedios de conteo de las colonias de bacterias rizosféricas UFC/g suelo seco por muestra, aisladas en el cultivo de caña de azúcar.

Los resultados del presente estudio evidencian que la rizosfera del cultivo de caña de azúcar presenta que la M1 posee mayor cantidad de UFC en bacterias mientras que, en hongos la M3, las cuales se muestran en la **Figura 9**.

La investigación realizada por Armida et al., (2020) utilizando dos métodos de riego sobre la densidad microbiana en este cultivo, documentó que, bajo condiciones de riego constante, se alcanzaron niveles de 1.17×10^{13} UFC/g de microorganismos (bacterias y hongos), lo que representa una diferencia significativa respecto a los valores obtenidos en condiciones de riego temporal, es decir dependiendo de las condiciones climáticas y la humedad del suelo.

Tengxiang et al. (2018) en su investigación realizada sobre el uso de intersección en la caña de azúcar y soja, menciona que la abundancia de hongos varía de $1,4 \times 10^7$ copias genéticas de suelo seco g^{-1} a $3,57 \times 10^7$ copias genéticas de suelo seco, a su vez indica de manera general, se observó un incremento notable en la presencia de hongos en el suelo en el cultivo de soja, mientras que no se registró un aumento en la caña de azúcar.

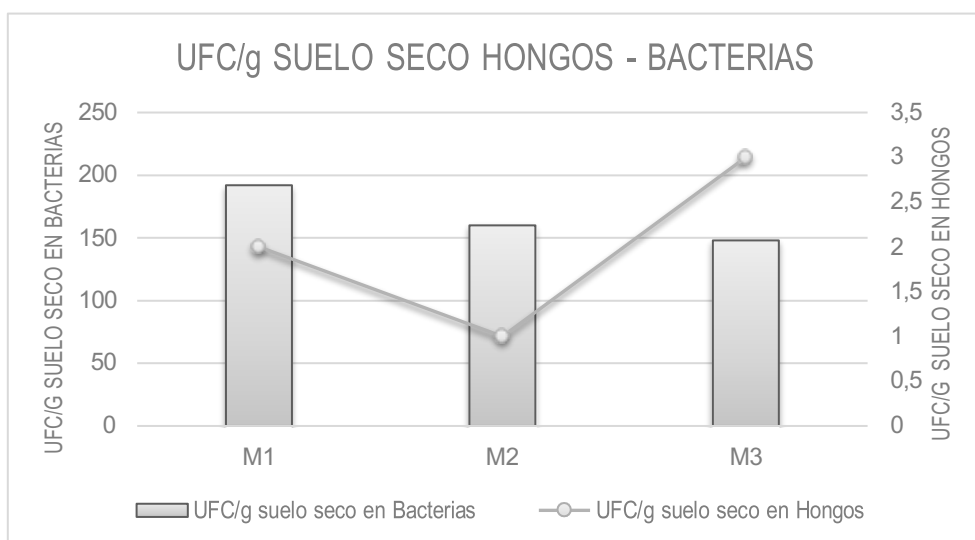


Figura 9. Comparación de los promedios de hongos y bacterias aislados en el cultivo de la caña de azúcar.

3.5 Aislamiento de cepas bacterianas

Los resultados del aislamiento de bacterias rizosféricas en el cultivo de caña de azúcar muestran que, M1 presentó el mayor conteo con un 46% de los aislados, seguido de M3 con 36% y M2 con solo 18%, observado en la **Figura 10**. Aislado un total de 11 probables cepas con características PGPR. Según López et al. (2016), los cultivos de caña de azúcar pueden establecer relaciones simbióticas eficaces con bacterias beneficiosas, lo que optimiza las condiciones para su proliferación. Además, Kumar et al. (2013) señalan que, las bacterias rizosféricas desempeñan un papel crucial en la mejora de la disponibilidad de nutrientes como el fósforo y el nitrógeno, lo que podría estar contribuyendo a la presencia bacteriana en las muestras conectadas.

En este contexto, los aislamientos obtenidos en las tres muestras presentan conteos superiores a los reportados por Hernandez et al., (2020), donde obtuvo un promedio de 141.67 UFC/g en suelo de caña de azúcar en Tabasco, México; mientras que, en este trabajo el promedio de conteo en la misma dilución fue de 221 UFC/g, detallado en la **Tabla 6**. El mismo autor reportó 22 aislados y en este trabajo se aislaron 11 cepas con características rizosféricas, presentados en la **Figura 11**.



Figura 10. Porcentajes de aislados bacterianos de la rizosfera de leguminosas procedentes del centro de Apoyo Río Verde.

Tabla 6. Conteo de bacterias rizosféricas en caña de azúcar, Río Verde-(UPSE).

| Muestra/Dilución | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁸ | 10 ⁻⁹ | Promedio UFC/g |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------|
| LMAM1 | 221 | 311 | 192 | 171 | 157 | 210,4 |
| LMAM2 | 168 | 207 | 160 | 145 | 173 | 170,7 |
| LMAM3 | 72 | 88 | 148 | 157 | 136 | 120,3 |



Figura 11. Bacterias rizosféricas aisladas del cultivo de Caña de Azúcar.

3.6 Identificación y caracterización morfo-bioquímicas de aislados bacteriano

Los resultados obtenidos en este trabajo mediante la observación macro y microscópicas de las cepas bacterianas aisladas se presentan en la **Tabla 7**. La observación de las características morfológicas en las muestras de microorganismos reveló una notable diversidad en la textura y apariencia, que concuerda con las características de las PGPR (Soto-Valenzuela, 2021).

Tabla 7. Caracterización fenotípica y bioquímica de cepas rizosfericas en cultivo de Caña de Azúcar.

| CODIGO | CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | TINCIÓN DE GRAM | FORMA | PRUEBA DE CATALASA |
|--------------------------------|------------------------------|-----------------|-------------|--------------------|
| CA-10 ⁻⁵ -RVa-MR-M2 | Blanquecina Ligosa | - | Coco | MP |
| CA-10 ⁻⁵ -RVa-MR-M3 | Amarillo Gomosa | - | Bacilos | P |
| CA-10 ⁻⁶ -Rva-MR-M3 | Blanquecina Gomosa | + | cocobacilos | P |
| CA-10 ⁻⁷ -RVb-MR-M1 | Blanquecina Gomosa | + | cocobacilos | MP |
| CA-10 ⁻⁷ -RVa-MR-M1 | Blanquecina Gomosa | - | Bacilos | MP |
| CA-10 ⁻⁷ -RVa-MR-M3 | Rosada Gomosa | - | Bacilos | MP |
| CA-10 ⁻⁸ -RVb-MR-M1 | Amarillo Mucosa | + | cocobacilos | AB |
| CA-10 ⁻⁸ -RVb-MR-M1 | Blanquecina Gomosa | + | cocobacilos | AB |
| CA-10 ⁻⁸ -RVa-MR-M2 | Blanquecina Ligosa | - | cocobacilos | MP |
| CA-10 ⁻⁸ -RVb-MR-M3 | Blanquecina Gomosa | + | cocobacilos | P |
| CA-10 ⁻⁹ -RVb-MR-M1 | Amarillo Mucosa | - | Bacilos | P |

Positivo (+), Negativo (-); Muy Poco (MP), Poco (P), Abundante (AB).

Se identificaron varias muestras con características blanquecinas y gomosas, siendo las más frecuentes aquellas que presentaban una textura blanquecina gomosa y amarillo

mucosa. Estas características coinciden con lo señalado por Sosa et al. (2004), quienes describen a los morfotipos de rizobios como bacterias de color blanco, blanquecino o ligeramente rosado, ya que no absorben el Rojo Congo. Otras características, como blanquecina muy mucosa y amarilla mucosa, también se observaron, aunque en menor cantidad, que se observa en la **Figura 12**.

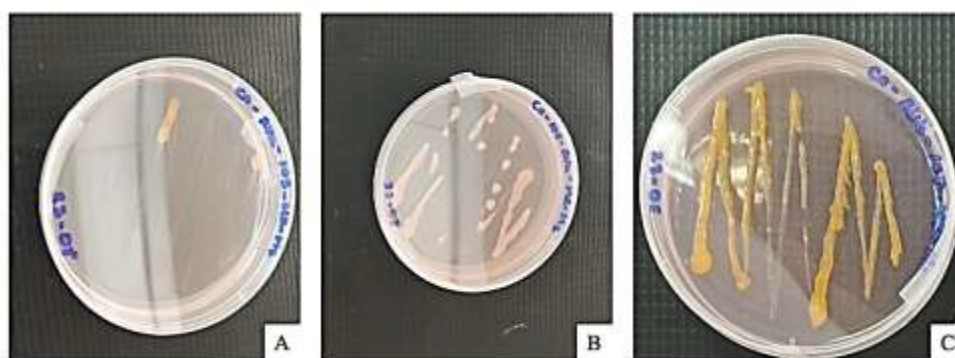


Figura 12. Morfotipos de las cepas en aislada en medio LMA-RC; (A) Muy poco; (B) Poco y (C) Medio.

La tinción de Gram mostró que el 55% de las muestras analizadas eran Gram negativas, mientras que el 45% resultaron ser Gram positivas, lo que indica que en la rizosfera del cultivo de caña de azúcar predominan las bacterias Gram negativas. Según Sosa et al. (2004), aunque la tinción de Gram no es definitiva, es útil para confirmar las características tintoriales de los rizobios.

En cuanto a la forma de los microorganismos, se observó que los cocobacilos fueron los más abundantes, representando el 55% del total de las muestras analizadas, mientras que los bacilos y cocos aparecieron con menor frecuencia. Flores y Vargas (2014) destacan que, las bacterias rizosféricas presentan una gran variabilidad morfológica, incluyendo formas como cocos, bacilos y espirilos, lo que puede influir en la textura y apariencia observadas en las muestras.

Además, la distribución de los resultados muestra una predominancia de microorganismos con baja actividad catalásica, clasificados como "muy poco (MP)" y "poco (P)". En este sentido, Jiménez et al. (2020) indica que las rizobacterias asociadas a cultivo de caña de azúcar tienen una alta actividad catalásica, lo que sugiere su capacidad para descomponer peróxido de hidrógeno y contribuir al metabolismo de las plantas. Asimismo, Morocho y Mora (2019) señalan que la actividad catalásica en microorganismos de la

rizosfera está asociada con la capacidad de estas bacterias para mejorar la asimilación de nutrientes.

3.7 Identificación de hongos del suelo en el cultivo de caña de azúcar.

En las observaciones realizadas en el cultivo de caña de azúcar se identificó la presencia de tres géneros de microhongos, de los géneros *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., presentado en menor frecuencia al género *Alternaria* sp., como se observa en las Figuras 13, 14 y 15, y detallados en la Tabla 8.

Los géneros *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. son conocidos por su capacidad para participar en procesos de descomposición y reciclaje de nutrientes. Estas especies pueden contribuir a la mejora de la fertilidad del suelo al descomponer materia orgánica, liberando nutrientes esenciales que son aprovechados por las plantas. Por ejemplo, se ha demostrado que *Aspergillus niger* es capaz de solubilizar fosfatos, mejorando así la disponibilidad de este nutriente para las plantas (Martínez et al., 2013).

Asimismo, el género *Alternaria* sp., aunque menos predominante, es conocido por causar diversas enfermedades foliares en cultivos agrícolas, incluyendo la caña de azúcar. Las infecciones por *Alternaria* sp., pueden resultar en pérdidas económicas significativas debido a su impacto negativo en el rendimiento del cultivo (Pavón et al., 2012). La pudrición roja, causada por hongos del género *Fusarium* y otros patógenos fúngicos, también es una preocupación importante en el cultivo de caña de azúcar, ya que puede afectar gravemente la productividad (Victoria et al., 1990).

Tabla 8. Microhongos encontrados en centro de apoyo Río Verde.

| CODIGO | GÉNERO |
|---------------------------|------------------------|
| MR-10 ² -R1-CA | <i>Aspergillus</i> sp. |
| MR-10 ² -R3-CA | <i>Aspergillus</i> sp. |
| MR-10 ³ -R1-CA | <i>Aspergillus</i> sp. |
| MR-10 ³ -R2-CA | <i>Penicillium</i> sp. |
| MR-10 ³ -R3-CA | <i>Penicillium</i> sp. |
| MR-10 ³ -R3-CA | <i>Alternaria</i> sp. |
| MR-10 ⁴ -R3-CA | <i>Aspergillus</i> sp. |
| MR-10 ⁴ -R3-CA | <i>Penicillium</i> sp. |

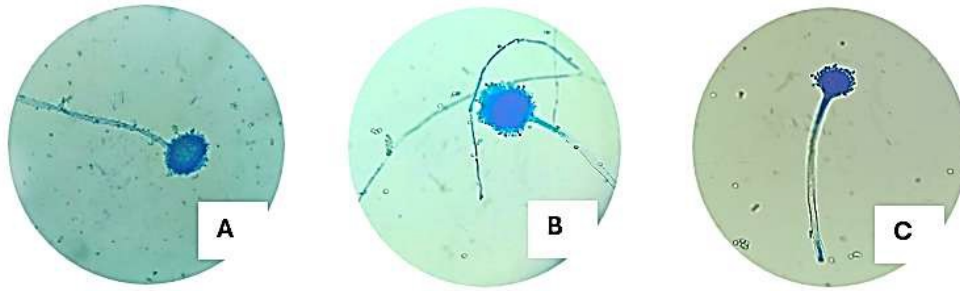


Figura 13. Imágenes de hongos aislados (A) *Aspergillus* sp. en dilución 10^{-2} muestra 1, (B) *Aspergillus* sp. en dilución 10^{-3} muestra 2 y (C), *Aspergillus* sp. en la dilución 10^{-4} de la muestra 3.

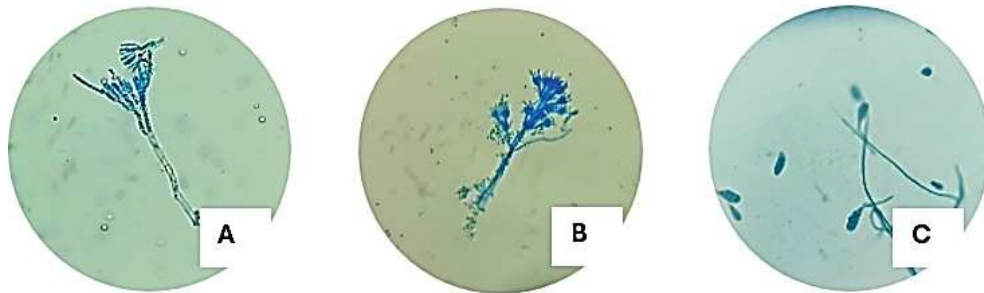


Figura 14. Identidad de hongos (A) *Penicillium* sp. en dilución 10^{-2} muestra 1, (B) *Penicillium* sp. en dilución 10^{-3} muestra 2 (C), *Alternaria* sp. en dilución 10^{-4} muestra 3.

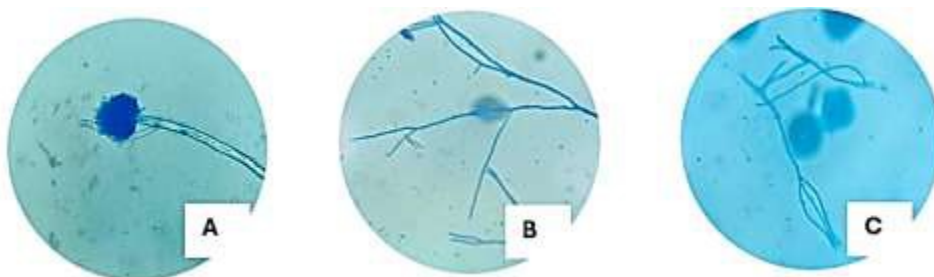


Figura 15. Identidad de hongos (A) *Aspergillus* sp. en dilución 10^{-2} muestra 1, (B) *Penicillium* sp. en dilución 10^{-3} muestra 2 (C), *Penicillium* sp. en dilución 10^{-4} muestra 3.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Se recolectaron un total de 12 submuestras de suelo, de lotes diferentes del cultivo de Caña de azúcar localizados en el Centro de Apoyo Río Verde de la provincia de Santa Elena, evaluando el estado físico, químico y microbiológico, que evidencia la interacción entre las plantas con sus microorganismos en presencia de algunas características y valores del suelo

1. Se determinaron valores físico-químico del suelo del cultivo de caña de azúcar en el Centro de Apoyo Río Verde, obteniendo un nivel de pH moderadamente ácido (6.6), alto nivel de potasio (K), calcio (Ca) y magnesio (Mg); pero con bajo nivel de fósforo (P).
2. Se identificaron microorganismos del suelo en el cultivo de caña de azúcar, obtuvieron 11 aislados con características PGPR, los cuales presenta beneficios para la agricultura.
3. Se identificaron los géneros de hongos *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp potencialmente benéficos.
4. Se identificó al género fúngico *Alternaria* sp como causante de patogenicidad en los cultivos.

Recomendaciones

- Se recomienda utilizar mayor número de diluciones, de ser necesario para evidenciar un mejor cálculo de los microorganismos en el suelo.
- Caracterizar por vía bioquímica y molecular las especies de bacterias y hongos presentes el suelo del cultivo de caña de azúcar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez, V., González, A., López, P. & Rodríguez, J., 2019. El suelo como medio de vida: Microorganismos y su influencia en el desarrollo vegetal.. *Revista de Ecología y Agricultura Sostenible*, 3(15), pp. 234-245..
- Armida, M., Pérez, J., González, L. & Rodríguez, T., 2020. Estudio sobre la proliferación de hongos en suelos agrícolas. Factores ambientales y características del suelo. *Revista de Microbiología y Ecología*, 34(2), pp. 118-130.
- Asocaña, 2019. *Caña de azúcar: Una actividad productiva y generador de energía*. [En línea] Available at: www.asocana.org [Último acceso: 12 noviembre 2024].
- Borbor, J., 2014. Uso de rizobacterias y bioinoculantes en la agricultura sostenible. *Revista de Investigación Agrícola*, 15(2), pp. 56-60.
- Cadena, J., 2017. *Papel artesanal de la paja de caña de azúcar*. México: Agroproductividad.
- Cassalett, A., Pérez, R. & Sánchez, L., 2020. Descripción taxonómica y morfológica de la caña de azúcar. *Revista de Botánica y Agronomía*, 18(2), pp. 104-118.
- Cepero, E., Martínez, R., Rodríguez, S. & García, F., 2012. *Identificación de microhongos mediante tinción con azul de lactofenol*, s.l.: Editorial Micología Avanzada.
- CINCAE, 2022. *FISIOLOGÍA, FLORACIÓN Y MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN ECUADOR*. ECUADOR: Publicaiones de variedades.
- CONADESUCA, 2020. Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar. *FICHA TÉCNICA DEL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR (Saccharum officinarum L.)*, p. 5.
- Correa, A. P. y otros, 2022. *Sugarcane cultivation practices modulate rhizosphere microbial community composition and structure*, Brasil: Scientific reports.
- Duarte, L. & González, R., 2019. Requerimientos climáticos y manejo de la caña de azúcar. *Revista de Ciencias Agropecuarias y Medio Ambiente*, 25(6), pp. 88-95.
- Enciclopedia de Biología, 2022. *Que es la caña de Azúcar*. Ecuador: Grudemi.
- ESPAC, 2021. Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua. *Gobierno aumenta el precio de la tonelada de caña de azúcar*, p. 2.

- Espinosa, A., 2019. *Estudio de la calidad del suelo y su impacto en los cultivos en la región*, s.l.: Editorial Universitaria.
- FAO, 2018. *Guía para el muestreo y análisis de suelos.*, s.l.: FAO.
- FAO, 2019. *FAOSTAT - Datos sobre la alimentación y la agricultura de más de 245 países y territorios. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.*
[En línea]
Available at: <https://www.fao.org/faostat/es/#data>
- Finch, S. & Finch, J., 1974. *Claves taxonómicas para la identificación de hongos microbianos*, s.l.: Editorial Mycological Press.
- FIRA, 2018. *Producción Sostenible de Caña de Azúcar en Boletín Informativo*. México: s.n.
- Flores, M. & Vargas, F., 2014. Diversidad bacteriana en la rizosfera de cultivos agrícolas en suelos tropicales. *Revista Mexicana de Ciencias de la Tierra*, 11(3), pp. 195-205.
- Gómez, T. N., 2024. *Estado físico, químico y microbiológico del suelo en el cultivo de café Coffea arabica L. en Manglaralto y Colonche, provincia de Santa Elena, La Libertad - Ecuador: UPSE.*
- Hernandez, L. y otros, 2020. Diagnostico sobre las bacterias rizosfericas asociadas al cultivo de cana de azucar (Saccharum spp). *Agro productividad*, 13(4), pp. 33-39.
- Infoagro, 2015. *El cultivo de la caña de azúcar.* [En línea]
Available at: https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_cana_azucar.asp
- Jiménez, D., Mendoza, M. & Gómez, G., 2020. Evaluación de la actividad catalásica de rizobacterias asociadas a leguminosas en suelos de clima templado. *Revista de Microbiología Aplicada*, 47(1), pp. 23-32.
- Kumar, A., Yadav, A. & Rathi, P., 2013. Microbial diversity of the sugarcane rhizosphere and its role in promoting plant growth and disease suppression. *Archives of Microbiology*, 195(7), pp. 475-487.
- Lagos, R. & Castro, R., 2019. La caña de azúcar: Impacto económico y distribución geográfica de su cultivo.. En: *Revista Latinoamericana de Ciencias Agropecuarias*. s.l.:s.n., pp. 27(4), pp. 112-130..
- Lagos, R. & C. R., 2019. La caña de azúcar: Impacto económico y distribución geográfica de su cultivo. En: *Revista Latinoamericana de Ciencias Agropecuarias*,. s.l.:s.n., pp. 27(4), pp. 112-130..
- Lagos, R. & Catro, R., 2019. La caña de azúcar: Impacto económico y distribución geográfica de su cultivo.. *Latinoamericana de Ciencias Agropecuarias*, 4(27), pp. 112 - 130.

- López, J., De la Paz, J. & Gutiérrez, S., 2016. *The rhizosphere microbiome of sugarcane: Insights into microbial diversity and functional potential*, s.l.: Frontiers in Microbiology.
- Loredo, A., González, P. & Flores, H., 2004. Interacciones microbiológicas y el uso de rizobacterias en cultivos de caña de azúcar. *Revista de Microbiología Aplicada*, 13(3), pp. 95-105.
- Loyo, G. M. D. C., 2018. *Evaluación de los efectos del uso del mucílago de nopal (Opuntia ficus-indica) y la temperatura en la clarificación de jugo de caña sobre el color de la panela.*, Ibarra -Ecuador: Universidad Técnica del Norte.
- Martínez, H., Hernández, S., Reyes, C. & Vázquez, G., 2013. El Género Aspergillus y sus Micotoxinas en Maíz en México: Problemática y Perspectivas. *Scielo*, 31(2), pp. 126-146.
- Mendes, R., Bentes, L., Escobar, P. & Rigobelo, E., 2020. Use of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Maize and Sugarcane: Characteristics and Applications. *Frontiers*, Volumen 4.
- Michavila, G. y otros, 2022. Plant growth-promoting bacteria isolated from sugarcane improve the survival of micropropagated plants during acclimatisation Authors. *Italian Journal of Agronomy*, Volumen 17.
- Montero, D., 2017. *Microbiología aplicada: Técnicas de tinción y observación microscópica*, s.l.: Editorial Universitaria.
- Morgado, A., Espinosa, D. & Gómez, F., 2015. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in sugarcane. *Scielo*, 33(4), pp. 321-330.
- Morgado, S., Silva, E. & González, F., 2015. Efectos de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) en la producción de caña de azúcar. *Revista de Biotecnología y Agricultura*, 22(1), pp. 89-98.
- Morocho, G. & Mora, M., 2019. Actividad catalásica en bacterias rizosféricas de suelos agrícolas y su relación con la asimilación de nutrientes en plantas.. *Revista Ecuatoriana de Biotecnología*, 27(2), pp. 45-58.
- Ortega, F., 2018. *Parámetros meteorológicos en la zona agrícola*, s.l.: Editorial Científica.
- Panchana, M., 2009. *Uso del medio de cultivo PDA para la identificación de hongos en muestras agrícolas*, s.l.: Editorial Agroecológica.
- Paungfoo, C., Watanarojanaporn, Nantida & Jaemsaeng, R., 2020. Plant Growth Promoting Rhizobacteria Enhance the Efficiency of the Combination of Organic and Chemical Fertilisers in Sugarcane. *Scientific Research*, 10(7).

- Pavón, M., González, A., Santos, M. d. & Lacarra, G., 2012. Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y agente causal de enfermedades humanas. *Scielo*, 27(6), pp. 1772-1781.
- Perero, A., 2024. *Características físicas, químicas y microbiológicas del suelo aisladas de dos variedades de pasto en Manglaralto y Colonche provincia de Santa Elena*, La Libertad: UPSE.
- Perero, J., 2024. *Métodos de conservación y manejo de muestras de suelo para análisis microbiológico*, s.l.: Editorial Académica.
- Pérez, I. J., Rodríguez, M. & Fernández, D., 2015. El origen y adaptación de la caña de azúcar: De la isla de nueva Guinea a los trópicos modernos.. *Revista Internacional de Botánica y Agricultura*, 31(4), pp. 215-227.
- Pozo, V. & Suarez, A., 2018. *Comportamiento agronómico de ocho variedades de Saccharum officinarum L., caña soca años 1 y 2, en Río verde, Provincia de Santa Elena.*, La Libertad - Ecuador: UPSE.
- Quinzo, A., 2022. *Métodos de identificación bacteriana: Técnicas de tinción de Gram y catalasa*, s.l.: Editorial Biotecnología y Microbiología.
- Ramon, M., 2021. *Producción global de caña de azúcar y su importancia en la economía mundial.*, s.l.: Informe Anual de Producción Agrícola,.
- Shahzad, T., Maqbool, M. & Khan, A., 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria: A biotechnological perspective.. *Frontiers in Plant Science*, 72(9), p. 2018.
- Sosa, C., Gutiérrez, C. & Rodríguez, J., 2004. Caracterización morfológica, fisiológica y bioquímica de rizobios aislados de la rizosfera de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*).. *Revista de Microbiología*, 36(4), pp. 357-364.
- Soto, J., 2020. *Taxonomía fenotípica y molecular de bacterias aisladas de nódulos de Clitoria Brachystegia Bent. Una leguminosa en peligro de extinción*, s.l.: Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Soto, V. A., Herrera, D. & Pérez, M., 2024. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: Un enfoque microbiológico en el cultivo de caña de azúcar. En: *Revista de Microbiología y Agricultura*. s.l.:s.n., pp. 22(1), pp. 52-63..
- Tejena, A., 2024. *Análisis de resultados en microbiología agrícola y métodos estadísticos*, Manabí: Universidad Técnica de Manabí.
- Tejena, A., 2024. *Técnicas de aislamiento de microorganismos en cultivo de rizobacterias y hongos*, Manabí: Universidad Técnica de Manabí.

Tengxiang, L. y otros, 2018. Use of sugarcane–soybean intercropping in acid soil impacts the structure of the soil fungal community. *Scientific reports*, 8(14488), pp. 1-7 .

Victoria, J., Guzman, M. & Angel, J., 1990. *Enfermedades de la caña de azúcar en Colombia*, Colombia: Cenicaña.

Vivas, A., Velázquez, E. & Cruz, M., 2006. Microbial diversity and microbial interactions in the rhizosphere of sugarcane. *Microbial Ecology*, 52(4), pp. 472-480.

Yara, 2022. *Estudio sobre la producción mundial de caña de azúcar y sus principales países productores.* [En línea] Available at: www.yara.com [Último acceso: 12 noviembre 2024].

Yara, 2022. *Knowledge grows La producción mundial de caña de azúcar.* [En línea] Available at: <https://www.yara.com.ec/nutricion-vegetal/cana-de-azucar/la-produccion-mundial-de-cana-de-azucar/#:~:text=El%20mayor%20productor%20es%20Brasil,casi%2015%20millones%20de%2>

Yara, 2022. *Requerimientos nutricionales y fertilización de la caña de azúcar.* [En línea] Available at: <https://www.yara.com.ec/nutricion-vegetal/cana-de-azucar/resumen-nutricional/> [Último acceso: 12 noviembre 2024].

Zuñiga, D. J., 2012. *Métodos de cuantificación de microorganismos en suelos agrícolas*, s.l.: Editorial Científica y Tecnológica.

Zuñiga, D. J., 2012. *Métodos de preparación y dilución para el aislamiento de microorganismos del suelo*, s.l.: Editorial Científica.

Zuñiga, J., 2012. *Métodos de preparación de medios de cultivo para microbiología agrícola*, s.l.: Editorial Científica.

ANEXOS

Anexo 1A. Análisis de suelo de la muestra del cultivo de Caña de Azúcar.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL LITORAL SUR
LABORATORIO DE SUELOS, TEJIDOS VEGETALES Y AGUAS
 Av. 28 de Mayo, Desali - Tarma, Ayacucho, Perú. 001-7069 Yaguajay - Guaymas - Escobedo
 Teléfono: 042724286 - 042724172 e-mail: laboratorio.enl@iniap.gob.ec

LABORATORIO DE ENSAYO
ACREDITADO POR EL SAE
 N°OAE LE C 11-007

INFORME DE ANALISIS DE SUELOS

| DATOS DEL PROPIETARIO | | DATOS DE LA MUESTRA | |
|-----------------------|--|---------------------------|--|
| Nombre : | UNIVERSIDAD ESTATAL PENINSULA DE SANTA ELENA | Informe No. : | 00593 - 24 |
| Dirección : | SANTA ELENA | Fecha Análisis : | 04/09/2024 |
| Ciudad : | LA LIBERTAD | Fecha Muestreo : | 28/03/2024 |
| Teléfono : | 042781732 | Fecha Emisión : | 05/09/2024 |
| Fax : | 042781971 | Fecha Ingreso : | 29/08/2024 |
| | | Condiciones Ambientales : | T°C: 24.7 %H: 59.5 Cultivo Actual : CAÑA DE AZÚCAR |

| N° Laborat. | Identificación del Lote | pH | NH ⁴ | P | K | Ca | Mg | S | Zn | Fe | Mn | B | Cl |
|-------------|-------------------------|-----|-----------------|---|-----|----|------|---|-----|----|----|---|----|
| 79823 | MUJESTRA 1 | 6.6 | 4 | B | 266 | A | 3401 | A | 761 | A | | | |

ug/ml

| Interpretación | | pH | |
|-----------------------------------|-------|-----------|-------|
| NH ₄ , P, K, Ca, Mg, S | Mejor | 6.5 - 7.5 | Mejor |
| Zn, Cu, Fe, Mn, B, Cl | Alto | 6.5 - 7.5 | Mejor |
| | Medio | 6.5 - 7.5 | Mejor |
| | Bajo | 6.5 - 7.5 | Mejor |

| Intercambio | Biología | Extracción |
|---------------|-----------|--------------|
| K, Ca, Mg | Aluminio | Amidación |
| B, Cu, Fe, Mn | Aluminio | PEL |
| | Carbonato | Acidez de Ca |
| | Carbonato | Acidez de Ca |
| | Carbonato | Acidez de Ca |
| | Carbonato | Acidez de Ca |
| | Carbonato | Acidez de Ca |

| Balance de Nutrientes Sumin | |
|-----------------------------|-----------|
| NH ₄ | 25 - 40 |
| P | 15 - 20 |
| K | 180 - 200 |
| Ca | 150 - 180 |
| Mg | 10 - 15 |
| S | 10 - 15 |
| Zn | 10 - 15 |
| Fe | 10 - 15 |
| Mn | 10 - 15 |
| B | 10 - 15 |
| Cl | 10 - 15 |

NE = No evaluado
 <LC = Menor al Límite de Cuantificación
 Los resultados emitidos en este informe, corresponden únicamente a las muestras (cantidad) al ensayo.
 Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de acreditación otorgado al SAE.
 Las siglas, interpretaciones, etc. que se indican a continuación, están fuera del alcance de acreditación otorgada al SAE.
 (*) Ensayo subcontratado
 Se permite la reproducción parcial, si se va a lograr que sea en su totalidad
 Los datos relacionados con costos y subyacentes son proporcionados por el cliente


 Responsable Técnico del Laboratorio
 Ing. Di...



ESTACIÓN EXPERIMENTAL LITORAL SUR
LABORATORIO DE SUELOS, TEJIDOS VEGETALES Y AGUAS
 Km. 20 vía Durán - Jumbo Apdo. Postal 09-01-1003 Yaguachi - Guayas - Ecuador
 Teléfono: 042724560 - 042724119 e-mail: labovegeta@iniap.gob.ec

LABORATORIO DE ENSAYO
ACREDITADO POR EL SAE
 N°OAE LE C 11-007

INFORME DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DEL PROPIETARIO
 Nombre : UNIVERSIDAD ESTADAL PENINSULA DE SANTA
 Dirección : SANTA ELENA
 Ciudad : LA LIBERTAD
 Teléfono : 042781732
 Fax : 042781971

DATOS DE LA PROPIEDAD
 Nombre : SIM
 Provincia : SANTA ELENA
 Cantón : SANTA ELENA
 Parroquia : SANTA ELENA
 Ubicación : RIO VERDE

DATOS DE LA MUESTRA
 Informe No. : 00593 - 24
 Factura No. : 9483
 Responsable Muestras : Cliente
 Fecha Análisis : 04/09/2004
 Fecha Muestreo : 28/05/2004
 Fecha Emisión : 05/09/2004
 Fecha Ingreso : 29/08/2004
 Condiciones Ambientales : T°C: 24.7 %H: 58.5 Cultivo Actual : CAÑA DE AZÚCAR

| N° Laborat. | Identificación | * Textura (%) | * Clase Textural | mgp/100ml | | mS/cm | | (%) | | mgp/100ml | | Ca | | Mg | | Ca+Wg | |
|-------------|----------------|----------------------|------------------|-----------|------|-------|--------|--------|-------|-----------|------|---------|----|-------|---|-------|--|
| | | | | * AlH | * Al | * Na | * C.E. | * M.O. | * K | * Ca | * Mg | * Bases | Mg | K | K | K | |
| 79823 | MUSST96.1 | Aretilo Limo Arcilla | | | 0.73 | 17.01 | 6.26 | A | 24.00 | 2.71 | M | 6.54 | M | 31.73 | M | | |

Clasificación C.E.

| | |
|----|--------------|
| NS | • No Salino |
| MS | • Moderado |
| ES | • Muy Salino |

Identificación de Estructuras

| | |
|-------|---------------------------|
| C.E. | • Conductividad Eléctrica |
| M.O. | • Materia Orgánica |
| Na | • Sodio |
| AlH | • Aluminio |
| Al | • Aluminio |
| K | • Potasio |
| Mg | • Magnesio |
| Bases | • Bases |

Clasificación de Suelos

| | |
|-----|----------------------------|
| UIC | • Unidades de Infiltración |
| UIC | • Unidades de Infiltración |
| UIC | • Unidades de Infiltración |

UIC - Unidades de Infiltración

| UIC | UIC | UIC | UIC | UIC | UIC |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| UIC | UIC | UIC | UIC | UIC | UIC |

ME = No entregado

•LC = Menor al Límite de Cuantificación

Los resultados obtenidos en este informe, corresponden únicamente a las muestras suministradas para el análisis.
 Los errores de laboratorio (L) están indicados en el informe de resultados adjunto al SAE.
 Los errores de muestreo (M) están indicados en el informe de resultados adjunto al SAE.
 Se prohíbe la reproducción parcial o total de este informe sin el consentimiento escrito del laboratorio.

Los datos marcados con cursiva y subrayados, son proporcionalizados por el cliente.

Responsable Técnico del Laboratorio

Anexo 2A. Promedios de UFC/g suelo seco (Hongos).

| Tipo de cultivo | Muestra | Repeticiones | CANT. COLONIAS | CANT. Colonias | UFC/g suelo hongos |
|-----------------|---------|--------------|----------------|----------------|--------------------|
| Caña de Azúcar | M1 | R1 | 1 | | |
| | | R2 | 3 | 2 | |
| | | R3 | 2 | | |
| | | R1 | 2 | | |
| | | R2 | 0 | 2 | 2 |
| | | R3 | 3 | | |
| | | R1 | 0 | | |
| | | R2 | 3 | 2 | |
| | | R3 | 2 | | |
| | M2 | R1 | 1 | | |
| | | R2 | 4 | 2 | |
| | | R3 | 0 | | |
| | | R1 | 1 | | |
| | | R2 | 1 | 2 | 1 |
| | | R3 | 3 | | |
| | | R1 | 1 | | |
| | | R2 | 0 | 1 | |
| | | R3 | 2 | | |
| | M3 | R1 | 2 | | |
| | | R2 | 3 | 3 | |
| | | R3 | 4 | | |
| | | R1 | 2 | | |
| | | R2 | 2 | 2 | 3 |
| | | R3 | 2 | | |
| R1 | | 2 | | | |
| R2 | | 4 | 3 | | |
| R3 | | 2 | | | |

Anexo 3A. Promedios de UFC/g suelo seco (Bacterias).

| Tipo de cultivo | | Repeticiones | UNIDAD COLONIAS | X Colonias | UFC/g suelo bacterias |
|-----------------|------------------|--------------|-----------------|------------|-----------------------|
| Caña de Azúcar | | R1 | 204 | 221 | 210,4 |
| | | R2 | 244 | | |
| | | R3 | 216 | | |
| | | R1 | 304 | 311 | |
| | | R2 | 380 | | |
| | | R3 | 248 | | |
| | | R1 | 192 | 192 | |
| | | R2 | 180 | | |
| | | R3 | 204 | | |
| | R1 | 196 | 171 | | |
| | R2 | 160 | | | |
| | R3 | 156 | | | |
| | R1 | 160 | 157 | | |
| | R2 | 152 | | | |
| | R3 | 160 | | | |
| | R1 | 168 | 168 | | |
| | R2 | 180 | | | |
| | R3 | 156 | | | |
| | R1 | 216 | 207 | | |
| | R2 | 196 | | | |
| | R3 | 208 | | | |
| | R1 | 164 | 160 | 170,7 | |
| | R2 | 160 | | | |
| | R3 | 156 | | | |
| R1 | 136 | 145 | | | |
| R2 | 144 | | | | |
| R3 | 156 | | | | |
| R1 | 180 | 173 | | | |
| R2 | 180 | | | | |
| R3 | 160 | | | | |
| M3 | 10 ⁻⁵ | R1 | 52 | 72 | 120,3 |
| | | R2 | 80 | | |

| | | | |
|-----------|----|-----|-----|
| | R3 | 84 | |
| 10^{-6} | R1 | 88 | |
| | R2 | 120 | 88 |
| | R3 | 56 | |
| 10^{-7} | R1 | 152 | |
| | R2 | 144 | 148 |
| | R3 | 148 | |
| 10^{-8} | R1 | 160 | |
| | R2 | 168 | 157 |
| | R3 | 144 | |
| 10^{-9} | R1 | 148 | |
| | R2 | 160 | 136 |
| | R3 | 100 | |

Anexo 4A. Colecta de las muestras en Río Verde.



Anexo 5A. Reactivos para preparación de PDA y LMA.



Anexo 6A. Preparación de diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} .



Anexo 7A. Siembra de microorganismo en los medios de cultivo.



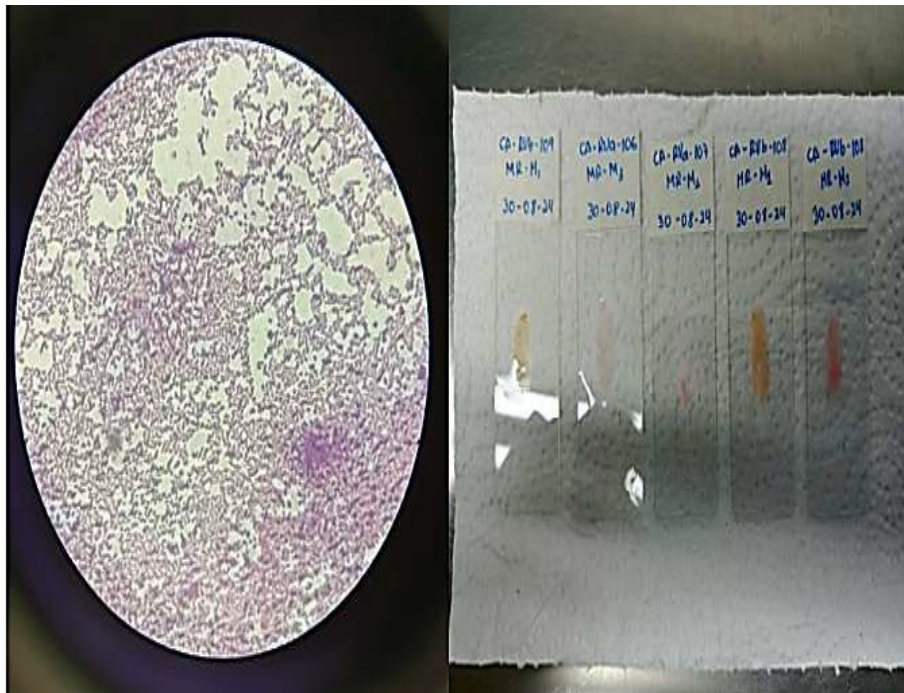
Anexo 8A. Incubación de muestras para la proliferación de microorganismos.



Anexo 9A. *Conteo de UFC de bacterias y hongos.*



Anexo 10A. Pruebas bioquímicas.



Anexo 11A. Microhongos rizosfericos aislados del cultivo de Caña de Azúcar.



Anexo 12A. Bacterias rizosfericas aisladas del cultivo de Caña de Azúcar.

