



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES
CARRERA DE AGRONOMÍA

Proyecto de Investigación previo a
la obtención del título de Ingeniera
Agrónoma.

Título de Proyecto de Investigación

**EFFECTO DE APLICACIONES DE BIOFORMULADOS-PGPRS EN GERMINACIÓN Y
CRECIMIENTO DE *Carica papaya L*, EN VIVERO**

Autor:

Delgado Basurto Vicenta Dayana

Director de la Unidad de Integración Curricular:

Hayron Fabricio Canchignia Martínez, Ph.D

Mocache – Los Ríos – Ecuador

2022

Declaración de Autoría y Sesión de Derechos

Yo, **Vicenta Dayana Delgado Basurto**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, y por la normatividad institucional vigente.

.....

Vicenta Dayana Delgado Basurto

C.I: 092824880-6

Certificación de Culminación del Proyecto de Investigación

El suscrito, **Hayron Fabricio Canchignia Martínez, Ph.D**, docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante Delgado Basurto Vicenta Dayana, realizó el proyecto de investigación titulado '**Efecto de aplicaciones de bioformulados-PGPRs en germinación y crecimiento de *Carica papaya L*, en vivero**', previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, bajo mi dirección, habiendo cumplido con todas las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

.....
Hayron Canchignia Martínez Ph.D
Director de Proyecto de Investigación

Certificado del Reporte de la Herramienta de Prevención de Coincidencia y/o Plagio Académico

El suscrito, **Hayron Fabricio Canchignia Martínez, Ph. D** Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, en calidad de Director del Proyecto de Investigación titulado ‘**Efecto de aplicaciones de bioformulados-PGPRs en germinación y crecimiento de *Carica papaya L*, en vivero**’, perteneciente a la estudiante **Delgado Basurto Vicenta Dayana**, certifica: el cumplimiento de los parámetros establecidos por la SENESCYT, y se evidencia el reporte de la herramienta de prevención de coincidencia y/o plagio académico (URKUND) con un porcentaje de coincidencia del 2%.



Document Information

Analyzed document	RESUMEN dayana delgado.docx (D151237726)
Submitted	2022-11-28 14:17:00
Submitted by	
Submitter email	hcanchignia@uteq.edu.ec
Similarity	2%
Analysis address	hcanchignia.uteq@analysis.arkund.com

Hayron Fabricio Canchignia Martínez Ph.D
Director de Proyecto de Investigación



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES
CARRERA DE AGRONOMÍA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TÍTULO:

“Efecto de aplicaciones de bioformulados-PGPRs en germinación y crecimiento de *Carica papaya*
L. en vivero”

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma

Aprobado por:

Dra. Silvia Saucedo Aguiar

Presidente del Tribunal

Dr. Fernando Abasolo Pacheco

Miembro del Tribunal

Ing. Yanila Granados Rivas

Miembro del Tribunal

Mocache-Los Ríos – Ecuador

2022

Agradecimiento

La autora de la presente investigación quiere dejar constancia de su sincero agradecimiento a las personas que hicieron posible la culminación de la misma.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por forjar en nosotros valores de constancia perseverancia y una excelente preparación académica para lograr la obtención del título de ingeniera Agrónoma.

Este logro se lo agradezco a Dios por darme fortaleza, y mantener firme en mis objetivos. A mi Director de tesis, Dr. Hayron Canchignia Martínez, por ser un docente siempre presto ayudar y enseñar y por todo el apoyo brindado durante el proceso de mi trabajo de investigación. A el Ing. Cristhian Coello. cada uno de mis familiares por su apoyo en cada momento y siempre ayudarme a ser una persona de bien.

Al Ing. Cristhian Macias, Ing. Dayanara Tapia, Ing. Luis Vera, Msc. Antonio Mendoza, Msc. Ángel Cedeño, Teresa Manzo, Vanessa Arellano, Ana María Miquinga por su sincera amistad y confianza brindada en el transcurso de mi proyecto de investigación. A mis miembros del tribunal por las recomendaciones realizadas.

A mis 17 compañeros de aula por ser un grupo unido con el que vivimos buenos y difíciles momentos, en especial a mi grupo de trabajo Diana Rendón, Alisson Abarca, Nicole Donoso Josué Giler y Juan Avellaneda con quienes he compartido toda esta etapa universitaria y han sido lo más valioso que me dejó.

Dedicatoria

Esta meta se la dedico a mis padres Alberto Delgado y Adela Basurto por inculcarme siempre valores y apoyarme en mi carrera.

A mis hermanas Lisbeth Tatiana y Diana por su apoyo y ser inspiración para lograr todo aquello que me proponga. A mis sobrinos Aisha, Osaias y Danna que me animan a construir un mundo mejor.

A mis abuelos Ramon Basurto y Idilia Delgado† quienes me enseñaron a trabajar por mis metas, y quienes desde pequeña inculcaron en mí el amor por el agro. A toda mi familia tías(os) y primas(os) que siempre se enorgullecen por cada logro de un miembro de la familia.

Resumen

La aplicación de nuevas alternativas biológicas que disminuyen el tiempo de germinación en semillas, incrementa su respuesta fisiológica y características morfológicas de las plántulas. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de bioformulados-PGPRs en la germinación de semillas y crecimiento de las plántulas de *Carica papaya L*, en vivero. Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), se utilizaron dos cepas PGPRs *Pseudomona protegens* (CHA0) y *Pseudomona putida* (BMR 2-4) en tres medios BIOIMPULSE, BIOQPGPRs y PGPRs-4N, se evaluó el efecto de los bioformulados sobre la germinación, incremento del sistema radicular y parámetros morfológicos en plantas. Las semillas de papaya fueron inoculadas con 20 μ l y 40 μ l de los tres bioformulados para evaluar la germinación, mientras que en el ensayo en rizotrones y en el experimento de inoculación en plantas con fertilización fosfatada se seleccionó BIOIMPULSE por presentar la mejor respuesta en germinación. Como resultado la aplicación de 20 μ l BIOIMPULSE+CHA0+BMR 2-4) aumento el porcentaje de germinación al 83.75 %, a su vez que incremento la longitud de hipocótilo y raíz. La aplicación de BIOIMPULSE+CHA0+BMR 2-4 en plantas incrementó el peso fresco de la planta con 58.15 gr, longitud radicular 39.81 cm y numero de hojas 12. Por otra parte, el consorcio de las cepas en medio BIOIMPULSE aumentó la longitud y el área de los pelos absorbentes. La aplicación de bioformulados-PGPRs genero un efecto beneficio al promover la germinación y el desarrollo del sistema radicular de las plántulas y plantas en vivero.

Palabras claves: Bioformulados, PGPRs, pelos absorbentes.

Abstract

The application of new biological alternatives that reduce the germination time in seeds, increases their physiological response and morphological characteristics of the seedlings. The objective of the research was to evaluate the effect of the application of bioformulated-PGPRs on seed germination and growth of *Carica papaya* L. seedlings, in the nursery. was used a completely randomized design (CRD), two PGPRs *Pseudomonas protegens* (CHA0) and *Pseudomonas putida* (BMR 2-4), strains were used in three media BIOIMPULSE, BIOQPGPRs and PGPRs-4N, the effect of the bioformulated ones on the germination, increase of the root system and morphological parameters in plants. Papaya seeds were inoculated with 20 μ l and 40 μ l of the three bioformulates to evaluate germination, while in the rhizotron assay and in the inoculation experiment in plants with phosphate fertilization, BIOIMPULSE was selected for presenting the best response in germination. As a result, the application of 20 μ l BIOIMPULSE+CHA0+BMR 2-4 increased the germination percentage to 83.75%, in turn increasing the length of the hypocotyl and root. The application of BIOIMPULSE+CHA0+BMR 2-4 in plants increased the fresh weight of the plant with 58.15 gr, root length 39.81 cm and number of leaves 12. On the other hand, the consortium of the strains in BIOIMPULSE medium increased the length and the area of the absorbent hairs. The application of bioformulated-PGPRs generated a beneficial effect by promoting germination and the development of the root system of seedlings and plants in the nursery.

Key words: Bioformulates, PGPRs, absorbent hairs.

Tabla de Contenido

Portada.....	i
Declaración de Autoría y Sesión de Derechos	ii
Certificación de Culminación del Proyecto de Investigación	iii
Certificado del Reporte de la Herramienta de Prevención de Coincidencia y/o Plagio Académico.....	iv
Certificado de Aprobación de Sustentación del Tribunal.....	v
Agradecimiento.....	vi
Dedicatoria	vii
Resumen	viii
Abstract	ix
Tabla de Contenido.....	x
Código Dublín	x
Introducción.....	1
CAPÍTULO I. CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.1 Planteamiento del Problema	4
Diagnóstico.....	4
Formulación del Problema	4
Sistematización del Problema.....	5
1.2 Justificación	6
1.3 Objetivos.....	7
1.3.1 Objetivo General	7
1.3.2 Objetivos Específicos.	7

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	8
2.1 Marco Conceptual	9
2.1.1 PGPRs.....	9
2.1.2 Bioformulados.....	9
2.1.3 Pelos Absorbentes.	9
2.2 Marco Referencial	10
2.2.1 Origen y Distribución.	10
2.2.2 Taxonomía y Morfología.....	11
2.2.3 Germinación y Siembra de Papaya en Vivero.	12
2.2.3.1 Sustrato.	12
2.2.3.2 Semilla de Papaya	13
2.2.3.3 Tratamientos Pre-germinativos.	13
2.2.3.4 Siembra	14
2.2.4 Cepas Bacterianas PGPRs	14
2.2.4.1 Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal PGPRs	14
2.2.4.2 <i>Pseudomonas protegens</i> CHA0	15
2.2.4.3 <i>Pseudomonas putida</i> BMR 2-4	15
2.2.5 Bioformulados.....	16
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	17
3.1 Localización de la Investigación.....	18
3.2 Tipo de investigación	18
3.3 Métodos de Investigación.	18
3.4 Fuentes de Recopilación de Información	19

3.5	Diseño de Experimental la Investigación.	19
3.5.1	Experimento 1. Evaluación los Efectos de los Bioformulados PGPRs en la Germinación... de Carica papaya.	19
3.5.2	Experimento 2. Evaluar el Efecto de Bioformulado PGPRs Sobre el Incremento del Sistema Radicular de Plántulas de Papaya hawaiana (<i>Carica papaya</i>).	21
3.5.3	Experimento 3. Evaluación las Características Morfológicas de las Plántulas de Papaya Hawaiana (<i>Carica papaya</i>) por Aplicación de Bioformulados PGPRs y la Aplicación de Fertilizante Fosfatado.	23
3.6	Instrumentos de investigación.	24
3.6.1	Manejo de Experimentos.	24
3.6.1.1	Elaboración de Bioformulado PGPR.	24
3.6.1.2	Preparación de Semilla para Evaluar la Germinación.	25
3.6.1.3	Inoculación de Semillas.	25
3.6.1.4	Siembra de Papaya y Aplicación de Bioformulados en Rizotrones.	25
3.6.1.5	Preparación de Sustrato para Evaluar la Respuesta de las Plántulas de Papaya a los Bioformulados y a Fertilización Fosfatada.	26
3.6.1.6	Preparación de Semilla para la Siembra en Fundas de Polietileno.	26
3.6.1.7	Aplicación de Bioformulado y Fertilización Fosfatada para Evaluar el Crecimiento de Plántulas de Papaya Hawaina.	27
3.6.2	Variables Evaluadas.	27
3.6.2.1	Variables Evaluadas para el Experimento 1.	27
3.6.2.1.1	Porcentaje de Germinación.	27
3.6.2.1.2	Numero de Raíces.	27
3.6.2.1.3	Longitud de Raíz.	27
3.6.2.1.4	Longitud de Hipocótilo.	28
3.6.2.1.5	Diámetro de Hipocótilo.	28

3.6.2.1.6	Peso Fresco.....	28
3.6.2.2	Variables Evaluadas en el Experimento 2.....	28
3.6.2.2.1	Longitud de Raíz.....	28
3.6.2.2.2	Volumen de la Raíz.....	28
3.6.2.2.3	Área de Pelos Absorbentes.....	28
3.6.2.2.4	Longitud de Pelos Absorbentes.....	29
3.6.2.3	Variables Evaluadas en el Experimento 3.....	29
3.6.2.3.1	Longitud de Raíz.....	29
3.6.2.3.2	Peso de la Raíz.....	29
3.6.2.3.3	Altura de la Planta.....	29
3.6.2.3.4	Diámetro del Tallo.....	29
3.6.2.3.5	Número de Hojas.....	30
3.6.2.3.6	Peso Total	30
3.7	Tratamiento de los Datos.....	30
3.8	Recursos Humanos y Materiales.....	30
3.8.1	Recursos Humanos.....	30
3.8.2	Material Genético.....	31
3.8.3	Materiales de Laboratorio y Reactivos.....	31
3.8.4	Equipos de Laboratorio.....	32
3.8.5	Materiales de Invernadero.....	33
3.8.6	Fertilizantes.....	33
3.8.7	Materiales de Oficina.....	34

CAPÍTULO IV. RESULTADO Y DISCUSIÓN.....	35
4.1 Resultados.....	36
4.1.1 Evaluación del uso de Bioformulados-PGPRs en la Germinación de Semillas de Papaya... ..	36
4.1.1.1 Porcentaje de Germinación.....	36
4.1.1.2 Número de Raíces y Longitud de la Raíz de Plántulas.	37
4.1.1.3 Longitud y Diámetro del Hipocótilo.	38
4.1.1.4 Peso Fresco	39
4.1.2 Efecto de Bioformulado PGPRs Sobre el Incremento del Sistema Radicular de ..Plántulas de Papaya Hawaiana (<i>Carica papaya</i>).	41
4.1.2.1 Volumen y Longitud de Raíz.....	41
4.1.2.2 Área de Pelos Absorbentes	42
4.1.2.3 Longitud de Pelos Absorbentes.....	43
4.1.3 Evaluación de los Efectos de la Aplicación de Bioformuldo-Pgprs con Fertilización Fosfatada Sobre las Características Morfológicas de Plantas de Papaya Hawaiana...47	
4.1.3.1 Altura de y Peso de la Planta.	47
4.1.3.2 Longitud y Peso de Raíz.....	48
4.1.3.3 Diámetro de Tallo y Número de Hojas.....	49
4.2 Discusión.	52
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	56
5.1 Conclusiones.....	57
5.2 Recomendaciones.....	58

CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA.....	59
6.1 Bibliografía	60
CAPÍTULO VII. ANEXOS.....	71
7.1 Anexos.....	72

Índice de Tablas

Tabla 1. Producción de papaya en Ecuador.....	11
Tabla 2. Descripción Taxonómica del cultivo de Papaya.	11
Tabla 3. Descripción de los tratamientos a emplearse en el experimento 1.....	20
Tabla 4. Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del primer experimento.	21
Tabla 5. Descripción de tratamientos a emplearse en experimento 2.....	22
Tabla 6. Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del segundo experimento.....	22
Tabla 7. Tratamientos a emplearse en experimento 3.....	23
Tabla 8. Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del experimento 3.	24
Tabla 9. Descripción de los medios de cultivos.....	24

Índice de Figuras

Figura 1. Porcentaje de germinación de papaya hawaiana en semillas con inoculación de Bioformulados-PGPRs y los medios sin PGPRs.	36
Figura 2. Número y longitud de raíces de plántulas de papaya hawaiana inoculadas con Bioformulados-PGPRs y los medios sin PGPRs.	37
Figura 3. Longitud y diámetro del hipocótilo de plántulas papaya hawaiana inoculadas con Bioformulados PGPRs y los medios sin PGPRs.	38
Figura 4. Peso fresco de las plántulas inoculadas con Bioformulado P GPRs y medios sin PGPRs.	39
Figura 5. Plántulas de papaya 20 días después de la aplicación de los bioformulados PGPRs y medios sin PGPRs.	40
Figura 6 . Volumen y longitud de raíz de plántulas inoculadas con bioformulado-PGPRs.	41
Figura 7. Área de pelos absorbentes en raíces de plántulas inoculadas con bioformulados de PGPRs.	42
Figura 8. Longitud de pelos absorbentes en raíces de plántulas inoculadas con bioformulados - PGPRs.	43
Figura 9. Plántulas de papaya hawaiana en rizotrones 15 días después de la siembra.	42
Figura 10. Raíces y pelos absorbentes de plántulas tratadas con ácido indolacético AIA	45
Figura 11. Raíces y pelos absorbentes de plántulas tratadas con bioformulado de la cepa <i>P. putida</i> BMR 2/4.	45
Figura 12. Raíces y pelos absorbentes de plántulas tratadas con bioformulado de la cepa <i>P. protegens</i> CHA0.	46
Figura 13. Raíces y pelos absorbentes de plántulas tratadas con bioformulado del consorcio de cepa <i>P. putida</i> 2/4 y <i>P. protegens</i> CHA0.	46
Figura 14. Raíces y pelos absorbentes de plántulas control.	46
Figura 15. Altura y peso de plantas inoculadas con bioformulados-PGPRs y fertilización fosfatada.	47
Figura 16. Longitud y peso de raíz de plantas inoculadas con bioformulados-PGPRs y fertilización fosfatada.	48
Figura 17. Raíces de plantas tratadas con bioformulados PGPRs y fertilización fosfatada. ...	49

Figura 18. Diámetro de tallo y número de hojas de plantas inoculadas con bioformulado PGPRs y fertilización fosfatada.....	42
Figura 19. Plantas inoculadas con bioformulado-PGPRs y fertilización fosfatada.....	51

Índice de Anexo

Anexo A. Elaboracion e inoculacion de bioformulado en semillas.	72
Anexo B. Efecto de los Bioformulados PGPRs sobre el incremento del sistema radicular	72
Anexo C. Efecto de aplicación de Bioformulados-PGPRs y fertilizacion fosfatada.	73
Anexo D. Analisis de varianza de porcentaje de germinacion.....	73
Anexo E. Análisis de varianza de número de raíces	74
Anexo F. Análisis de varianza de longitud de raíz.....	74
Anexo G. Análisis de varianza de diámetro de hipocótilo.	74
Anexo H. Análisis de varianza de altura de hipocótilo	75
Anexo I. Análisis de varianza de peso fresco.	75
Anexo J. Volumen de raíz de plántulas en rizotrones.	75
Anexo K. Longitud de raíz de plántulas en rizotrones.	76
Anexo L. Área de pelos absorbentes en zona de crecimiento.....	76
Anexo M. Área de pelos absorbentes en zona de crecimiento.....	76
Anexo N. Longitud de pelos absorbentes en zona de ramificación.....	77
Anexo Ñ. Área de pelos absorbentes en zona de ramificación	77
Anexo O. Longitud de pelos absorbentes en zona Pilosa.	77
Anexo P. Área de pelos absorbentes en zona Pilosa.	78
Anexo Q. Altura de plantas en vivero	78
Anexo R. Diámetro de plantas en vivero.....	78
Anexo S. Número de Hojas de plantas en vivero.....	79
Anexo T. Longitud de raíz de plantas en vivero.	79
Anexo U. Peso de la raíz de plantas en vivero	79
Anexo V. Peso total de plantas.....	80

Código Dublín

Título:	“Efecto de aplicaciones de bioformulados-PGPRs en germinación y crecimiento de <i>Carica papaya L</i> , en vivero.”
Autor:	Vicenta Dayana Delgado Basurto
Palabras claves	Bioformulados, PGPRs, pelos absorbentes.
Fecha de publicación:	
Editorial:	
Resumen:	<p>Resumen. -La aplicación de nuevas alternativas biológicas que disminuyen el tiempo de germinación en semillas, incrementa su respuesta fisiológica y características morfológicas de las plántulas. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de bioformulados-PGPRs en la germinación de semillas y crecimiento de las plántulas de <i>Carica papaya L</i>, en vivero. Se empleo un diseño completamente al azar (DCA), se utilizaron dos cepas PGPRs <i>Pseudomonas protegens</i> (CHA0) y <i>Pseudomonas putida</i> (BMR 2-4) en tres medios BIOIMPULSE, BIOQPGPRs y PGPRs-4N,. (...).</p> <p>Abstract.-The application of new biological alternatives that reduce the germination time in seeds, increases their physiological response and morphological characteristics of the seedlings. The objective of the research was to evaluate the effect of the application of bioformulated-PGPRs on seed germination and growth of <i>Carica papaya L</i>. seedlings, in the nursery. was used a completely randomized design (CRD), two PGPRs <i>Pseudomonas protegens</i> (CHA0) and <i>Pseudomonas putida</i> (BMR 2-4), strains were used in three media BIOIMPULSE, BIOQPGPRs and PGPRs-4N,. (...).</p>
Descripción:	100 Hojas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM 6162
URI:	

Introducción

La papaya hawaiana es un cultivo natural de los trópicos y subtropicos se adapta a una amplia variedad de climas y zonas, aunque prefiere las zonas cálidas y con alta irradiación solar, es esta variedad fue insertada en el país hace algunos años y se caracteriza por su tamaño, aroma y sabor dulce (1). Su origen se ubica en las tierras bajas de la América Tropical, específicamente en Mesoamérica. A través del intercambio natural entre los primeros pobladores de América y el Caribe, la fruta logró diseminarse por muchas regiones de esas áreas (1).

Según datos del III Censo Nacional Agropecuario, en Ecuador, Santo Domingo de los Tsáchilas es la provincia que más produce papaya en monocultivo (30%) con una producción de 316 ha, distribuidas en 131 (UPAs). Guayas es la segunda mayor productora de papaya bajo el mismo sistema, con una superficie cosechada de 231 ha repartidas en 373 (UPAs). En el caso de estar asociada, la provincia de Esmeraldas posee un porcentaje de (17%), seguida de Morona Santiago (16%), Manabí (14%) y Guayas (11%) (2)

La propagación comercial de papaya generalmente se realiza por semilla, es la forma más fácil y económica y se encuentra accesible para los productores ya que de un solo fruto se pueden extraer numerosas semillas (3). Sin embargo, las semillas de papaya presentan dificultades respecto a la germinación, debido a que poseen un poder germinativo corto, lento e irregular, y pueden tardar entre 4 y 8 semanas para germinar. Lo cual, se ha correlacionado con la presencia de inhibidores de germinación, principalmente compuestos fenólicos en la testa y sarcotesta (3).

El cultivo de papaya requiere de una alta demanda de nutrientes en todas sus etapas, durante los primeros meses de vida se debe proporcionar a la planta niveles óptimos de potasio y fosforo para asegurar buenos rendimientos en la producción, en el primer mes es necesario aplicar 10 g de fosforo por planta, en el periodo de cuaje de las primeras flores 380 g por planta

(4) , además que en el momento del trasplante se debe agregar 1 kg de Superfosfato triple en el hoyo de siembra (1), es evidente que el fosforo es uno de los macroelementos que más demanda este cultivo.

El uso de microorganismos PGPR usados como bioinoculantes son una tecnología prometedora para reducir el uso de fertilizantes inorgánicos convencionales; lo que permitirá el mejoramiento de la disponibilidad de nutrientes del suelo al ser aplicado, además, de que ayuda a mejorar la tolerancia a la salinidad del suelo, la salud de las plantas, y mejorar los ciclos biogeoquímicos, obteniendo una fertilización limpia y amigable con el medio ambiente (5).

Los bioformulados a base de bacterias son las combinaciones y formulaciones de compuestos y varios PGPR que facilitan la capacidad de adquisición de nutrientes, promueven así una mejor germinación, desarrollo de raíces, vigor general del cultivo y tolerancia al estrés contra varios factores bióticos y abióticos (6). Considerando lo antes mencionado esta investigación busca evaluar los beneficios que presenta la aplicación de bioformulados-PGPRs en la germinación y desarrollo de las plántulas de papaya hawaiana (*Carica papaya L*), conjuntamente con la aplicación de fertilizantes fosfatados.

CAPITULO I

CONCEPTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del Problema

El cultivo de papaya hawaiana es una especie relativamente nueva como fuente de ingreso y monocultivo en nuestro país, se encuentra en un crecimiento exponencial dentro de nuestro territorio. La propagación con semillas de papaya presenta dificultades debido a los bajos niveles de germinación y plántulas con características agronómicas no deseadas, razón por la cual se opta por otras técnicas de propagación más costosas, El establecimiento y manejo adecuado del vivero es la etapa más importante del proceso productivo, debe garantizar plántulas sanas y vigorosas, listas para ser trasladadas al sitio definitivo, considerando que la calidad de la plántula trasplantada, se refleja en la sobrevivencia, vigor, desarrollo y, consecuentemente, en el rendimiento final por unidad de superficie.

Diagnóstico

En el cultivo de la papaya el proceso de germinación es lento, debido al bajo poder germinativo y la presencia de sustancias inhibidoras de dichos procesos esto conlleva a que los agricultores empleen métodos de propagación costosos, además que no siempre consiguen plántulas de calidad a precios accesibles y por ello siembran plantas poco vigorosas y resistentes lo que a futuro se traduciría a bajas producciones o en uso excesivos de fertilizantes y pesticidas.

Formulación del Problema

¿Cuál de los bioformulados generara la mejor respuesta en el incremento en porcentaje de germinación, sistema radicular de plántulas y características agronómicas en plantas de papaya en la etapa de vivero?

Sistematización del Problema

¿Cuáles serán los efectos de la inoculación de bioformulados- PGPRs en la germinación de las semillas de *Carica papaya*?

¿Generará un incremento en el sistema radicular la aplicación de bioformulados PGPRs?

¿Qué características morfológicas mejorarán con la aplicación de bioformulados PGPRs y fertilización fosfatada?

1.2 Justificación

Para el desarrollo de grandes o pequeñas extensiones de todo tipo de cultivos una importante inversión y decisión es elegir plantas resistentes sanas y aptas para el trasplante, en la mayoría de casos los agricultores deben elegir las plantas más costosas ya que consideran que son de mejor calidad, sin embargo, no siempre obtienen los resultados esperados al momento del trasplante ya que las plantas sufren estrés biótico y abiótico y suelen ser susceptibles a enfermedades.

El uso de rizobacterias PGPRs de manera in vitro a reconocido muchos beneficios que estas podrían brindar a las plantas, como la capacidad de solubilizar minerales como nitrógeno o fósforo, la producción de fitohormonas como ácido indolacético, la activación de la resistencia adquirida de las plantas, la producción de antibióticos entre otros, sin embargo, existe un desconocimiento sobre el empleo de estas bacterias a nivel de campo y en las etapas de germinación y manejo de vivero de plantas.

Debido a los beneficios que puede generar el empleo de rizobacterias PGPRs, esta investigación busca emplear bioformulados que contengan microorganismo PGPRs para evaluar su efecto sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de papaya hawaiana (*Carica papaya* L.) bajo fertilización fosfatada y de esta manera obtener una alternativa que brinde plántulas de buenas características y sea responsable con el ambiente y económica para el agricultor.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la aplicación de bioformulados-PGPRs en la germinación de semillas y crecimiento de las plántulas de *Carica papaya L*, en vivero.

1.3.2 Objetivos Específicos.

- Establecer los efectos de los bioformulados- PGPRs en el porcentaje de germinación de papaya hawaiana (*Carica papaya*).
- Evaluar el efecto de bioformulados-PGPRs sobre el incremento del sistema radicular de plántulas de papaya hawaiana (*Carica papaya*).
- Determinar las características morfológicas de las plántulas de papaya hawaiana (*Carica papaya*) como respuesta a la aplicación de bioformulados-PGPRs y fertilización fosfatada.

CAPITULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Marco Conceptual

2.1.1 *PGPRs*

Kloepper definió en 1978, a las bacterias de vida libre, encontradas en la rizosfera de las plantas como Rizobacteria Promotora del Crecimiento Vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés, que viene de la denominación Plant Growth Promoting Rhizobacteria) éstas demostraron ser organismos altamente eficientes para aumentar el crecimiento de las plantas e incrementar sus defensas frente a otros microorganismos causantes de enfermedades (7). Son bacterias vivas aisladas principalmente de la rizosfera se caracterizan por que promueven el crecimiento de las plantas mediante una amplia variedad de mecanismos, incrementan la disponibilidad de nutrimentos en la rizosfera al influir en el metabolismo de las plantas y mejorar su nutrición (8).

2.1.2 *Bioformulados*

Se define como cualquier sustancia biológicamente activa derivada de microbios biomasa o producto que contiene microbios y sus metabolitos que podrían utilizarse en la promoción del crecimiento de las plantas, la adquisición de nutrientes y el control de enfermedades en un entorno de manera ecológica (9).

2.1.3 *Pelos Absorbentes*

Son estructuras tubulosas que resultan de expansiones laterales de las mismas células epidérmicas que los originan, son los principales responsables de la absorción de agua y sales minerales. Son células epidérmicas alargadas localizadas en la zona de maduración de la raíz que aumentan enormemente la superficie en contacto con el medio externo, y por tanto la capacidad de absorción (10).

2.2 Marco Referencial

2.2.1 *Origen y Distribución*

Su origen se ubica en las tierras bajas de la América Tropical, específicamente en Mesoamérica o la región que incluye el sureste de México hasta Costa Rica: fue descrita por primera vez en 1526 por el historiador Fernández Oviedo. Por medio del intercambio natural entre los primeros pobladores de América y el Caribe, la fruta logró diseminarse por muchas regiones de esas áreas. También se ha observado una gran concentración de especies de Carica en la región Oriental de los Andes, comprendida entre Brasil, Bolivia, Colombia y Venezuela (11).

El clima tropical y la ubicación geográfica de las provincias de Manabí, Guayas, Los Ríos y Santo Domingo son óptimas para el crecimiento de cultivo como efecto a las condiciones favorables en cuanto al suelo, iluminación y humedad, factores que maximizan la productividad local (12).

La producción de papaya en Ecuador se encuentra un 89% distribuida en las provincias costeras de Manabí, Guayas, Los Ríos y Santo Domingo, desde ahí, se comercializa la cosecha a nivel local y nacional, el 11% de la producción se concentra en la Amazonía, en las provincias de Napo, Pastaza y Sucumbíos, donde se cultiva para el consumo local de los pobladores (12). Según el Censo Nacional Agropecuario del 2018, el cultivo de papaya concentra 3.982 hectáreas, con un incremento del 32% relacionado a la cifra del censo del 2011 (3.000 hectáreas).

Tabla 1*Producción de papaya en Ecuador (13)*

Producción (Toneladas)	Producción por persona en Kg	Superficie (Ha)	Por Rendimiento (Kg/ Ha)
49.628	2,908	3.846	12.902,8

2.2.2 Taxonomía y Morfología**Tabla 2***Descripción taxonómica del cultivo de papaya.*

Tronco:	<i>Cormophyta</i>
División	<i>Angiosperma</i>
Clase:	<i>Dicotiledónea</i>
Subclase:	<i>Chrisopétala</i>
Segundo grado evolutivo:	<i>Dialipétala</i>
Orden:	<i>Parietales</i>
Familia:	<i>Caricacea</i>
Género	<i>Carica</i>
Especie:	<i>papaya</i>

La planta de papaya es una especie arborescente de crecimiento rápido, de corta vida, se considera una planta productiva hasta los 3 años, el tallo es sencillo o algunas veces ramificado, de 2-10 m de altura dependiendo de la variedad es cilíndrico fibroso y hueco que puede medir de 10-30 cm de diámetro. Su sistema radicular se caracteriza por una raíz principal o pivotante que puede llegar a uno o más metros de profundidad mientras las raíces secundarias se encuentran en los primeros 10 cm de profundidad (13).

Una planta adulta sana posee entre 30 hojas funcionales. Las flores del papayo son de color blanco, nacen en el tallo cerca de la inserción de las axilas de las hojas, poseen 5 pétalos y 5 sépalos. La polinización de las flores femeninas y hermafroditas se da por el viento y muchas veces por insectos. El papayo desarrolla 3 tipos de flores: la flores femenina o pistilada, la flor masculina y la flor hermafrodita. El fruto de la papaya es una baya, que puede ser cilíndrico, alargado, en forma de pera o de forma g, según las variedades, los frutos pueden alcanzar de 15 a 50 cm de longitud, de 12 a 25 cm de diámetro y un peso de 0.5 a 25 libras o más lobular oval o redondo (13).

2.2.3 Germinación y Siembra de Papaya en Vivero

El manejo adecuado del vivero es la etapa más importante del proceso productivo, debe garantizar una plántula de calidad, de esto depende en mayor grado producir plántulas sanas y vigorosas, listas para ser trasladadas al terreno definitivo, la calidad de la plántula trasplantada, se refleja en la sobrevivencia, vigor, desarrollo y, consecuentemente, en el rendimiento final.

2.2.3.1 Sustrato

Las principales características que debe reunir un suelo para este cultivo son las siguientes: Suelto, húmedo, con buen drenaje, alto contenido de materia orgánica y un pH que fluctúe entre seis y siete (14). Para este tipo de cultivo generalmente se utiliza compost, tierra negra o de siembre, turba y arena para poder obtener un material suelto y rico en nutrientes. Las mezclas tienen relación 1:1:1, esto es: 33% de arena, 33% de materia orgánica (estiércol vacuno, hojarasca bien descompuesta, seca, cernida y desinfectada) y 33% de suelo franco (13). La desinfección del sustrato se la puede realizar con la acción directa del sol, con agua caliente, o con productos sintéticos como Propamocarb y Carbendazim en dosis de 1-2 cc de producto por litro de agua.

2.2.3.2 Semilla de Papaya

La reproducción por semillas es el método más común entre los cultivadores, aunque también puede propagarse por esquejes. La variedad Sunrise solo es la más cotizada por el mercado internacional ya que tiene las características idóneas exigidas por el mercado

2.2.3.3 Tratamientos Pre-germinativos

Las semillas de papaya han sido clasificadas como intermedias por tolerancia a la desecación, entre las ortodoxas y las recalcitrantes, mostrando signos de estrés por desecación con contenidos de humedad menores de 8%, la desecación induce quiescencia metabólica o dormancia, lo que ocasiona que durante la siembra la germinación sea lenta y se obtengan porcentajes de emergencia bajos (15).

Para incrementar el porcentaje de germinación y emergencia, así como su homogeneidad, se han sugerido algunos métodos: una técnica utilizada es la pregerminación, en la cual las semillas se sumergen en agua limpia de pH neutro, se debe cambiar el agua cada 8-12 h por 2 ó 3 días, luego 48 h de remojo, se observa si existen semillas flotando y de ser así estas se deben descartar. Otro método consiste en el remojo de las semillas en ácido giberélico a razón de 200 mg/ L agua, y 1,0 M de nitrato de potasio. La aplicación de los tratamientos anteriores tiene el propósito de eliminar o contrarrestar el efecto de las sustancias lipoproteicas que retardan o inhiben la germinación (15).

Con el uso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal para acelerar y mejorar la germinación en semillas de *carica papaya*, para ello utilizó las cepas *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum brasilense*, obteniendo como resultado un porcentaje de la germinación del 90% con el tratamiento de *Azobacter* (15). El uso de inoculantes microbianos como tratamiento pregerminativo de semillas es otra de las técnicas que se aplica para mejorar la homogeneidad en la germinación, El biocebado de semillas con PGPR es una de las soluciones económicas y ecológicas para aumentar el crecimiento en las etapas tempranas o primarias de su crecimiento. (16)

El uso de PGPR beneficiosos como *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.*, *Bacillus spp.*, *Azotobacter spp.* entre otras, como bioinoculantes o agente de tratamiento pregerminativo de semillas ha sido bien documentado y utilizado para mejorar la tolerancia al estrés, la absorción de nutrientes y la germinación de semillas. En general, estos organismos vivos muestran diferentes actividades multifuncionales, como la producción de reguladores del crecimiento vegetal, como auxinas, citoquininas, ácido abscísico y giberelinas, además la producción de metabolitos secundarios, y proporcionan resistencia a las plantas a estrés abiótico y a enfermedades. (16)

2.2.3.4 Siembra

La siembra de la semilla se realiza a una profundidad de 2 a 3 centímetros. Se deposita de 3 a 4 semillas por bolsa, se cubre y se presiona firmemente. Estas semillas pueden germinar entre los 10 y 20 días después de ser depositadas en las bolsas siendo necesario conservar una humedad adecuada. (17)

2.2.4 Cepas Bacterianas PGPRs

2.2.4.1 Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal PGPRs

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR por sus siglas en inglés, Plant Growth Promoting Rhizobacteria, son bacterias vivas aisladas principalmente de la rizosfera se caracterizan por que promueven el crecimiento de las plantas mediante una amplia variedad de mecanismos como: fijación de nitrógeno; síntesis de fitohormonas (auxinas, giberelinas, citocininas), vitaminas y enzimas; solubilización de P inorgánico y mineralización de P orgánico; oxidación de sulfuros; incremento en la permeabilidad de la raíz; producción de nitritos; acumulación de nitratos; reducción de la toxicidad por metales pesados, protección a patógenos a través de la producción de metabolitos secundarios, solubilización de varios nutrientes entre otros beneficios (8). En el cultivo de pimiento la inoculación de PGPRs en

semillas mejoro el porcentaje de germinación y acelero los días de emergencia, además que se evidencio la presencia de AIA en las cepas utilizadas (18).

2.2.4.2 *Pseudomonas protegens* CHA0

Es una eubacteria de vida libre, aislada de las raíces del tabaco. Esta PGPR se caracteriza por producir metabolitos secundarios con actividad antibiótica de amplio espectro (cianuro de hidrógeno (HCN), 2,4-diacetilfloroglucinol, pioluteorina y pirrolnitrina), están asociadas a la inhibición de fitopatógenos. *Pseudomonas protegens* CHA0 es una bacteria colonizadora de raíces bien caracterizada con capacidad de biocontrol de amplio espectro. (19). Estudios demuestran como este género promueve la tasa de germinación y el crecimiento de las plántulas en la aplicación diferentes tratamientos a semillas de papaya antes de la siembra. (20)

2.2.4.3 *Pseudomonas putida* BMR 2-4

Pseudomonas putida es un tipo de bacteria gram-negativa que se encuentra comúnmente en el agua y el suelo, particularmente alrededor de las raíces de las plantas (21). Son particularmente adecuadas como agentes de control biológico y biofertilizantes, ya que: utilizan una amplia gama de exudados de la raíz como fuente de, están presente en los suelos de forma abundante, en particular en la rizosfera, poseen una amplia gama de metabolitos mediante los cuales ejercen actividad antagonista o inhibitoria contra fitopatógenos, presentan capacidad diazotrófica, productora de auxinas, sideróforos y solubilización de fósforo (22). Un estudio realizado en plantas de tomate en cual se emplearon pruebas químicas que demostraron la capacidad de *P. putida* para producir AIA, solubilizar fosforo, solubilizar nitrógeno además de que a inoculación produjo el mayor peso de raíz y la mayor cantidad de nutrientes en el fruto a comparación de los demás tratamientos y el control (23).

2.2.5 *Bioformulados*

Son sustancia biológicamente activa derivada de microbios biomasa o producto. En general, las especies microbianas empleados para productos bioformulados contienen microbios rizosféricos beneficiosos que influyen en el crecimiento y desarrollo de las plantas ya sea directa o indirectamente. Las especies empleadas en bioformulaciones incluyen géneros como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y los géneros fúngicos más utilizados pertenecientes a *Trichoderma spp* (9).

CAPITULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Localización de la Investigación

La investigación se realizó en el laboratorio e invernadero de Microbiología y Biología Molecular, ubicados en el Campus “La María” propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), ubicada en el km 7,5 de la vía Quevedo- El Empalme, provincia de Los Ríos.

3.2 Tipo de Investigación

El proyecto de investigación es de tipo experimental fue realizado en invernadero y laboratorio, para determinar el efecto de la aplicación de bioformulados PGPRs durante la germinación de *Carica papaya* y se evaluaron características morfológicas de plantas en crecimiento bajo la aplicación de los bioformulados y fertilización con fuentes de fosforo.

3.3 Métodos de Investigación

- **Método deductivo:** Se utilizó durante el proceso de evaluación de los efectos de las aplicaciones de los bioformulados en la germinación y el crecimiento de plántulas de *Carica papaya*.
- **Método Analítico:** Se empleó para la interpretación de los resultados y de las fuentes literarias utilizadas.
- **Método de Observación:** Se usó durante todo el proceso de la investigación, en la evaluación de los procesos mediante la percepción directa de los objetos y fenómenos.

3.4 Fuentes de Recopilación de Información

Para el desarrollo de esta investigación se recopilará información de fuentes primarias información obtenida a través de la observación directa de las variables del cultivo y secundarias, información extraída de libros, revistas científicas, artículos científicos, tesis, informes y boletines divulgativos.

3.5 Diseño Experimental de la Investigación

3.5.1 Experimento 1. Evaluación los Efectos de los Bioformulados PGPRs en la Germinación de Carica papaya

Para establecer los efectos causados por los bioformulados que contienen bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la germinación, se utilizaron tres medios de crecimiento bacteriano y dos bacterias en igual concentración para los tres bioformulados, se empleó un diseño completamente al azar DCA, se establecieron 14 tratamientos con 4 repeticiones. Todas las variables en estudio se sometieron a la prueba de rangos múltiples de Tukey al 95% de probabilidad para establecer la diferencia entre las medias de los tratamientos. Se evaluó por medio de un análisis de varianza utilizando el programa estadístico InfoStat

Tabla 3*Descripción de los tratamientos a emplearse en el experimento 1*

Tratamiento	Descripción
T1	40 ul (BIOIMPULSE + CHA0+ BMR 2-4)
T2	20 ul (BIOIMPULSE + CHA0+ BMR 2-4)
T3	40 ul (BIOQPGPRs+ CHA0+ BMR 2-4)
T4	20 ul (BIOQPGPRs+ CHA0+ BMR 2-4)
T5	40 ul (PGPRs 4N+ CHA0+ BMR 2-4)
T6	20 ul (PGPRs 4N+ CHA0+ BMR 2-4)
T7	40 ul BIOIMPULSE
T8	20 ul BIOIMPULSE
T9	40 ul BIOQPGPRs
T10	20 ul BIOQPGPRs
T11	40 ul PGPRs 4N
T12	20 ul PGPRs 4N
T13	Control (Agua 40 ul)
T14	Control (Agua 20 ul)

Tabla 4

Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del primer experimento

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	13
Error	42
Total	55

3.5.2 Experimento 2. Evaluar el Efecto de Bioformulado PGPRs sobre el Incremento del Sistema Radicular de Plántulas de Papaya hawaiana (*Carica papaya*)

Para el desarrollo de este objetivo se implementó un ensayo con el uso de rizotrones para observar el desarrollo del sistema radicular de plántulas de papaya, inoculadas con el bioformulado conjunto a las bacterias PGPRs empleadas, se aplicó el diseño completamente al azar (DCA) con 5 tratamientos y con 3 repeticiones, Las variables fueron sometidas a la prueba Tukey al 95% de probabilidad para establecer la diferencia entre las medias de los tratamientos. Esto se evaluó con el uso del programa estadístico InfoStat.

Tabla 5

Descripción de tratamientos a emplearse en experimento 2

Tratamiento	Descripción
T1	BIOIMPULSE + cepa CHA0
T2	BIOIMPULSE + cepa BMR 2-4
T3	BIOIMPULSE + cepa BMR 2-4+ cepa CHA0
T4	ACIDO INDOLACÉTICO (AIA)
T5	CONTROL

Tabla 6

Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del segundo experimento

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	4
Error	10
Total	14

3.5.3 Experimento 3. Evaluación las Características Morfológicas de las Plántulas de Papaya Hawaiana (*Carica papaya*) por Aplicación de Bioformulados PGPRs y la Aplicación de Fertilizante Fosfatado

Para evaluar los efectos de bioformulados y fertilización fosfatada sobre el crecimiento en plántulas de papaya hawaiana en vivero, se aplicó el diseño completamente al azar (DCA) con 6 tratamientos y 4 repeticiones cada uno. Las variables serán sometidas a la prueba Tukey al 95% de probabilidad para establecer la diferencia entre las medias de los tratamientos. Esto se evaluó con el uso del programa estadístico InfoStat.

Tabla 7

Tratamientos a emplearse en experimento 3

Tratamiento	Descripción
T1	BIOIMPULSE+CHA0+ BMR 2-4
T2	5 g/planta Roca fosfórica +BIOIMPULSE+CHA0+ BMR 2-4
T3	5 g/planta SFT +BIOIMPULSE+CHA0+ BMR 2-4
T4	5 g/planta Roca fosfórica
T5	5 g/planta SFT
T6	Agua

Tabla 8*Esquema de análisis de varianza (ADEVA) del experimento 3*

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	5
Error	18
Total	23

3.6 Instrumentos de Investigación

3.6.1 Manejo de Experimentos

3.6.1.1 Elaboración de Bioformulado PGPRs

Para el crecimiento de bacterias PGPRs se realizó en tres medios de cultivos, las bacterias fueron incubadas en 50 ml de los diferentes bioformulados a 140 rpm a 27 °C / 24 h., el material bacteriano procedió del laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la UTEQ.

Tabla 9*Descripción de los medios de cultivos para elaboración de Bioformulados-PGPRs*

BIOIMPULSE	BIOQPGPRs	PGPRs 4N
Melaza: 5% (P/V)	Melaza: 2.5% (P/V)	Melaza: 5% (P/V)
Harina de maíz: 20g/l	Harina de maíz: 20g/l	Harina de maíz: 20g/l
Sal en grano: 0,50%	Urea 2,5 g/l	Sal en grano: 0,50%
Glicerina: 15ml/l	Glicerina: 15ml/l	Glicerina: 15ml/l
Fijador: 5 ml/1lt	Roca fosfórica: 1.5gr/lt	Roca fosfórica: 1.5gr/
pH inicial: 6.5	pH inicial: 6.5	pH inicial: 6.5

3.6.1.2 Preparación de Semilla para Evaluar la Germinación

Las semillas recién sacadas del fruto se colocaron en agua y se removió manualmente la sarcotesta (cubierta mucilaginosa que rodea a la testa). Posteriormente se eliminaron los restos de sarcotesta y las semillas que floten después del remojo se descartaron por considerarse no viables. Las semillas se extendieron en papel, formando una sola capa y se secaron durante 3 días en condiciones de sombra a temperatura ambiente, las semillas se conservaron en refrigeración hasta que inicio el ensayo de germinación (Anexo A).

3.6.1.3 Inoculación de Semillas

Para la germinación e inoculación las semillas se desinfectaron con hipoclorito al 0.1% y posteriormente se enjuagaron con agua destilada, fueron colocadas en remojo con agua por 72 horas, pasado el tiempo establecido se seleccionaron 80 semillas por cada tratamiento. Las semillas se colocaron sobre papel absorbente húmedo en bandejas de aluminio 80 semillas por bandeja, para la inoculación en las semillas los bioformulados se homogenizaron a una concentración de 1×10^8 (UFC x ml), la inoculación se realizó directamente sobre la semilla con el respectivo tratamiento se cubrieron con papel absorbente húmedo y se selló la bandeja con fundas plásticas. Las bandejas fueron colocadas en incubadora a 24 °C. estas permanecieron en incubadora por 20 días para evaluar las variables (Anexo A).

3.6.1.4 Siembra de Papaya y Aplicación de Bioformulados en Rizotrones

Los rizotrones consistían en dos placas de vidrio de 18 x 12 cm separadas por una barra de madera de 2 cm, dentro del rizotrón se introdujo sustrato esterilizado preparado con tierra negra, biocompost y perlita a razón de (3:1), para la inoculación de las semillas con el bioformulado PGPRs las semillas pregerminadas y desinfectadas se sumergieron en 20 ml bioformulados PGPRs por 10 minutos y posteriormente se sembraron en los rizotrones 9 semillas por tratamiento (Anexo B). Para aplicar la hormona ácido indolacético-AIA como control positivo se preparó una solución madre disolviendo 25 mg de AIA en 2ml de alcohol,

esta solución se diluyó en 5 ml de agua destilada, se aplicó 50 µl de la solución madre en 50 ml de agua y se sumergieron las semillas por 10 minutos, luego se sembraron, los rizotrones las semillas sembradas permanecieron 8 días en incubación a una temperatura de 23 °C pasado este tiempo se trasladaron a invernadero cubriendo las placas con cartulina negra, se realizaron 2 aplicaciones de bioformulados PGPRs de 1 ml de bioformulado por planta a una concentración del 20% de manera semanal. Las variables se evaluaron 22 días después de la siembra.

3.6.1.5 Preparación de Sustrato para Evaluar la Respuesta de las Plántulas de Papaya a los Bioformulados y a Fertilización Fosfatada

El sustrato para las bandejas de germinación se preparó con tierra negra, compost, arena y perlita en una relación 3:1 se utilizaron bandejas de 72 cavidades. Se mezclaron los elementos para el sustrato y se dejaron en un plástico negro para desinfectar por medio de solarización, posteriormente se desinfectó nuevamente con peróxido de hidrógeno y se dejó actuar por 4 días (Anexo C).

3.6.1.6 Preparación de Semilla para la Siembra en Fundas de Polietileno

Se utilizó semilla certificada de papaya hawaiana variedad Sunrise Solo, para pregerminar se dejó en remojo durante tres días cambiando el agua cada 12 horas pasado el tiempo se eliminaron las semillas que flotaron y se utilizaron aquellas que permanecían en el fondo del recipiente, se colocaron en una bandeja de aluminio con toallas absorbentes, se humedecieron y permanecieron en una incubadora a 25 °C hasta que pregerminaron. Una vez pregerminadas las semillas se sembraron en bandejas germinadoras de 72 cavidades, donde permanecieron por 25 días para posteriormente ser trasplantadas en fundas de polietileno de 1 kg donde se aplicaron los tratamientos respectivos.

3.6.1.7 Aplicación de Bioformulado y Fertilización Fosfatada para Evaluar el Crecimiento de Plántulas de Papaya Hawaiana

La aplicación de los tratamientos se realizó fraccionado en dos períodos de fertilización, es decir a los 10 y 20 días después del trasplante a fundas de polietileno. Se aplicaron las dosis de fertilizante fosfatado junto al bioformulado-PGPRs 5 ml/planta, ambos directamente al suelo alejado del tallo de la planta, las variables se evaluaron a los 35 días después del trasplante (Anexo C).

3.6.2 Variables Evaluadas

3.6.2.1 Variables Evaluadas para el Experimento 1

3.6.2.1.1 *Porcentaje de Germinación*

Esta variable se evaluó considerando el número de semillas germinadas frente al total de semillas del tratamiento, aplicando una regla de tres (Anexo A).

3.6.2.1.2 *Numero de Raíces*

Se evaluó contando de forma manual la cantidad de raíces por plántula.

3.6.2.1.3 *Longitud de Raíz*

Esta variable se evaluó utilizando un calibrador de vernier, la longitud radicular se midió desde el cuello de la raíz hasta el ápice, los datos se registraron en centímetros.

3.6.2.1.4 *Longitud de Hipocótilo*

Con el uso de una cinta métrica se midió la longitud del hipocótilo desde el cuello del tallo hasta el ápice de la plántula.

3.6.2.1.5 *Diámetro de Hipocótilo*

Esta variable se evaluó utilizando un calibrador de vernier, y se midió el diámetro en la parte media del hipocótilo.

3.6.2.1.6 *Peso Fresco*

Se utilizó una balanza electrónica para pesar en mg las plántulas.

3.6.2.2 Variables Evaluadas en el Experimento 2

3.6.2.2.1 *Longitud de Raíz*

Esta variable se evaluó utilizando un calibrador de vernier, la longitud radicular se midió desde el cuello de la raíz hasta el ápice, los datos se registraron en centímetros

3.6.2.2.2 *Volumen de la Raíz*

Esta variable se evaluó con el uso de una probeta sumergiendo las raíces en un volumen conocido de agua y observando la diferencia de volumen al sumergir las raíces.

3.6.2.2.3 *Área de Pelos Absorbentes.*

Para evaluar esta variable se utilizó el programa Imagen J, que permite medir pequeñas distancias a través de fotografías calibradas, se utilizó una imagen de 9 mm² de área y con la opción freehand selection se midió el área que ocupaba los pelos absorbentes en la imagen (Anexo B).

3.6.2.2.4 *Longitud de Pelos Absorbentes*

Para evaluar esta variable se utilizó el programa Imagen J, que permite medir pequeñas distancias a través de fotografías calibradas, se utilizó una imagen de 9 mm² y con la opción Straight se midieron los pelos absorbentes.

3.6.2.3 Variables Evaluadas en el Experimento 3

3.6.2.3.1 *Longitud de Raíz*

Esta variable se evaluó utilizando un calibrador de vernier, la longitud radicular se midió desde el cuello de la raíz hasta el ápice, los datos se registraron en centímetros.

3.6.2.3.2 *Peso de la Raíz.*

Para esta variable se tomó la raíz y se eliminó los residuos de suelo lavando con agua destilada y se pesó la raíz en una balanza

3.6.2.3.3 *Altura de la Planta*

Se utilizó una cinta métrica para medir la altura de la planta.

3.6.2.3.4 *Diámetro del Tallo*

Esta variable se evaluó utilizando un calibrador de vernier, y se midió el diámetro en el cuello del tallo,

3.6.2.3.5 *Número de Hojas*

Esta variable se evaluó contando el número de hojas por planta.

3.6.2.3.6 *Peso Total*

Se procedió a pesar la planta completa en una balanza.

3.7 *Tratamiento de los Datos*

El análisis estadístico de los resultados obtenidos de las variables de estudio, se realizó mediante un análisis de varianza (ADEVA) y para determinar diferencia significativa, se aplicó la prueba de significación Tukey ($p < 0.05$), este análisis se lo realizó en el programa estadístico InfoStat.

3.8 *Recursos Humanos y Materiales*

3.8.1 *Recursos Humanos*

La investigación se realizó con la orientación metodológica del Dr. Hayron Fabricio Canchignia Martínez, docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. El manejo del ensayo toma de variables será realizado por la Srta. Vicenta Dayana Delgado Basurto, estudiante de la carrera de Agronomía.

3.8.2 *Material Genético*

Para la elaboración de los bioformulados-PGPRs que se utilizaran en los experimentos se emplearon las cepas que se encuentran almacenadas en el banco de cepas bacterianas del laboratorio de biología molecular a -40°C.

- *Pseudomonas putida* BMR 2-4
- *Pseudomonas protegens* CHA0

3.8.3 *Materiales de Laboratorio y Reactivos*

- Agua destilada
- Alcohol 75%
- Bisturí
- Botellas esterilizables de 500 ml
- Embudos simples de vidrio
- Matraces (250-500 ml)
- Fundas de polipropileno
- Gasa estéril
- Cloro
- Guantes Quirúrgicos
- Juego de Micro-pipetas (0.2-10µl, 2- 0µl, 20-200µl y 100-1000µl)
- Papel Toalla

- Piseta de 500 ml
- Puntas amarillas de micro-pipeta (200 μ l)
- Puntas Blancas de micro-pipeta (10 μ l)
- Tijeras Quirúrgicas
- Tubos de Eppendorf (1.5 ml)
- Tubos Falcon (15ml)
- Vasos de precipitación (50 ml, 250 ml y 500ml)
- Moldes de aluminio
- Pinzas
- Mortero y pistilo
- Cloruro de potasio
- Sulfato de magnesio
- Glicerina
- Hormona Acido indolacético
- Nitrato de amonio

3.8.4 Equipos de Laboratorio

- Agitador
- Autoclave
- Balanza de 0.001 gr

- Cámara de flujo Laminar
- Centrífuga
- Destilador de agua
- Estufa
- Incubadora
- Nevera
- Vórtex
- Estereoscopio

3.8.5 *Materiales de Invernadero*

- Pala
- Plástico negro de polietileno
- Bandejas germinadoras
- Fundas de polietileno
- Espátula
- Regadera

3.8.6 *Fertilizantes*

- Roca Fosfórica
- Superfosfato Triple

3.8.7 Materiales de Oficina

- Computador
- Cuaderno
- Lapicero
- Pendrive

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

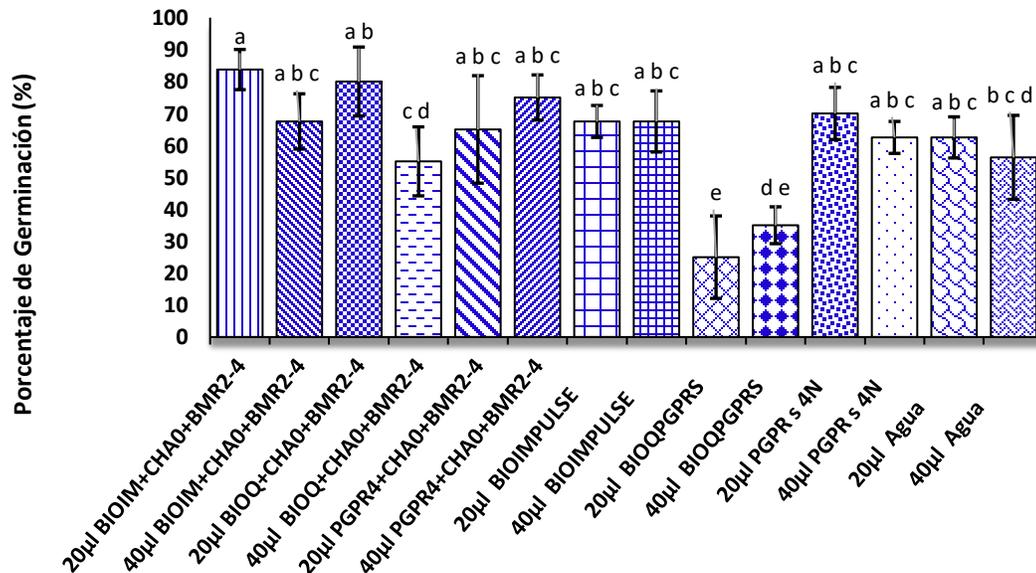
4.1.1 Evaluación del Uso de Bioformulados-PGPRs en la Germinación de Semillas de Papaya

4.1.1.1 Porcentaje de Germinación

La aplicación de los bioformulados PGPRs, generó diferencias significativas entre los tratamientos y un coeficiente de varianza de 15,49 %, siendo 20 µl de BIOIMPULSE+CHA0+BMR2-4 el cual obtuvo mayor porcentaje de germinación con el 83.75%, de manera similar 20 µl BIOQPGPRs+CHA0+BMR2-4 y 40 µl PGPR4N+CHA0+BMR2-4 alcanzaron porcentajes de 80% y 75% respectivamente, mientras que la aplicación de 20 µl del medio BIOQPGPRS generó la menor tasa de germinación con un porcentaje de 25% de semillas germinadas (Figura 1). Al ser muy bajo el porcentaje de germinación de las semillas inoculadas con el medio BIOQPGPRS sin bacteria no fue posible tomar las variables morfológicas de dichas plántulas.

Figura 1

Porcentaje de germinación de papaya hawaiana en semillas con inoculación de Bioformulados-PGPRs y los medios sin PGPRs.



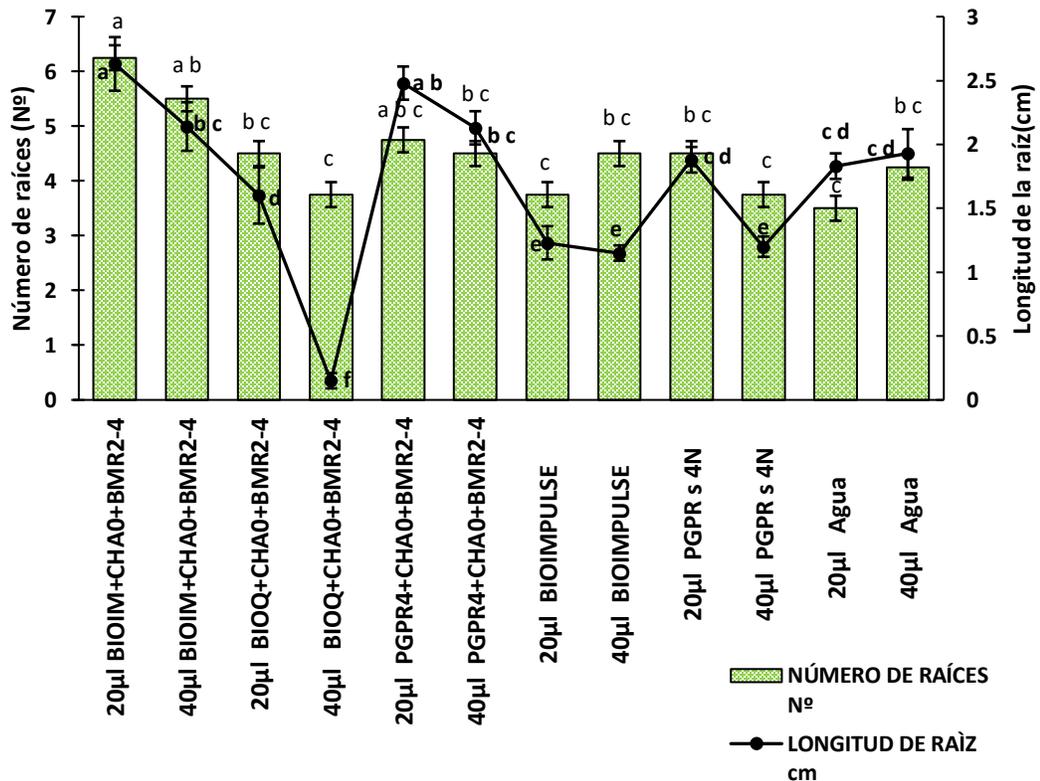
*Las barras ±Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

4.1.1.2 Número y Longitud de la Raíz de Plántulas

Respecto al número de raíces, las semillas inoculadas con bioformulados-PGPRs generaron un incremento en el número y longitud de las raíces en comparación del control, con coeficiente de varianza de 15,19% y 8,35% respectivamente, 20 µl de BIOIMPULSE+CHA0+BMR 2-4 alcanzo los mejores promedios con seis raíces, y una longitud de 2.63 cm, mientras que la aplicación de medio sin las bacterias presentó una menor longitud de raíz que oscila entre 1.23 cm y 1.83 cm y presentaron entre 3 a 4 raíces (Figura 2).

Figura 2

Número y longitud de raíces de plántulas de papaya hawaiana inoculadas con Bioformulados-PGPRs y los medios sin PGPRs.



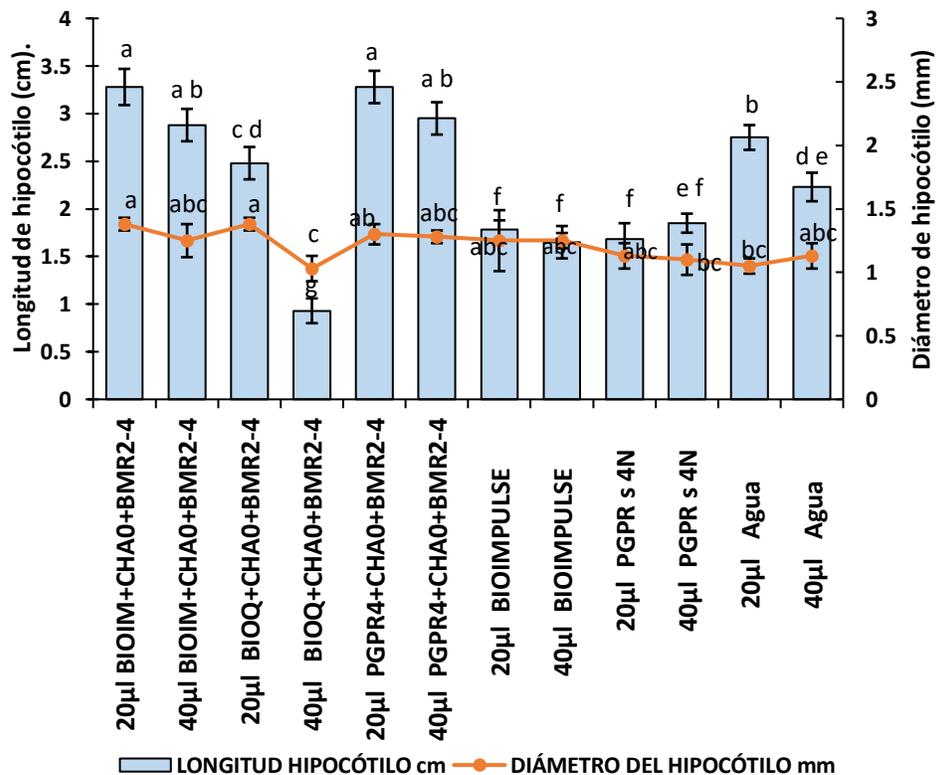
*Las barras indican ±Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey)

4.1.1.3 Longitud y Diámetro del Hipocótilo

Los bioformulados-PGPRs promovieron notablemente el incremento en longitud del hipocótilo generando un coeficiente de varianza de 6,70%, el tratamiento 20 µl de BIOIMPULSE +CHA0+BMR 2-4 con un promedio de 2.63 cm y 20 µl PGPR-4N+CHA0+BMR 2-4 con 2.48 cm, alcanzaron las mejores respuestas, mientras que 40 µl BIOQPGPRS+CHA0+BMR 2-4 obtuvo un bajo promedio de 0.15 cm, en la aplicación de los medio de cultivos sin bacterias no hubo diferencia significativa generando promedios inferiores de 1.65 cm . De igual manera la aplicación de bioformulados-PGPRs aumento el diámetro de hipocótilo y genero un coeficiente de varianza de 8,78% (Figura 3).

Figura 3

Longitud y diámetro del hipocótilo de plántulas papaya hawaiana inoculadas con Bioformulados PGPRs y los medios sin PGPRs.



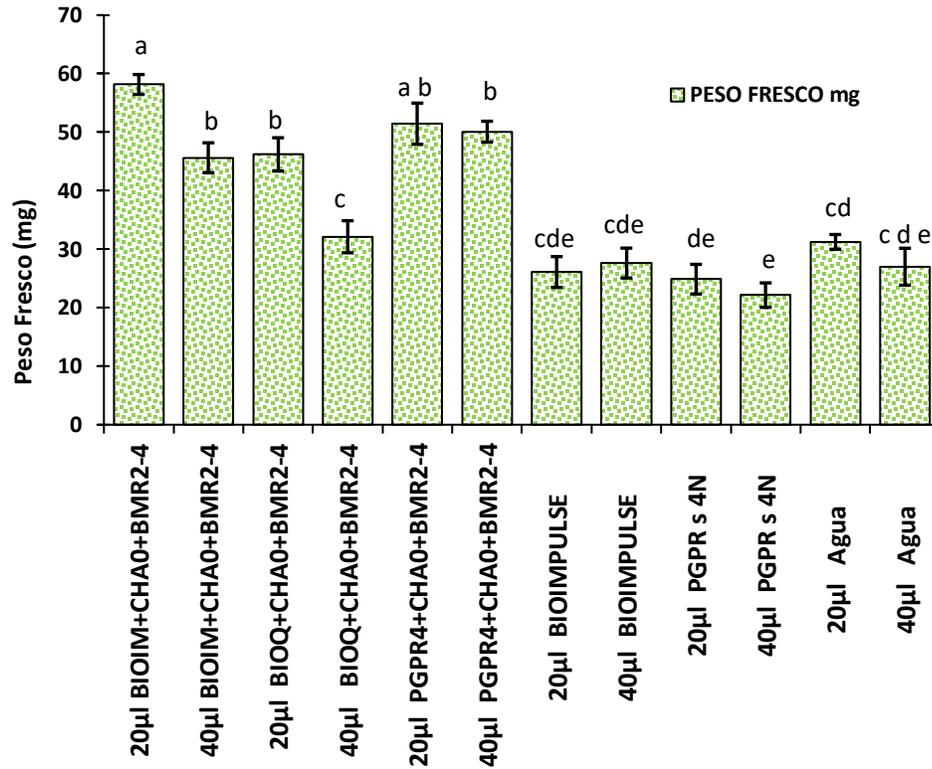
*Las barras indican ±Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a p<0.05 (test de Tukey)

4.1.1.4 Peso Fresco

La implementación de los bioformulados-PGPRs incrementó el peso fresco de las plántulas por aplicación de 20 µl de BIOIMPULSE +CHA0+BMR2-4 obtuvo el promedio más alto con 58.15 mg, mientras la aplicación de los medios sin las bacterias y la aplicación solo de agua obtuvieron promedios bajos entre 22 y 31 mg, se obtuvo un coeficiente de varianza de 7,27% (Figura 4).

Figura 4

Peso fresco de las plántulas inoculadas con Bioformulado PGPRs y medios sin PGPRs.



*Las barras indican \pm Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

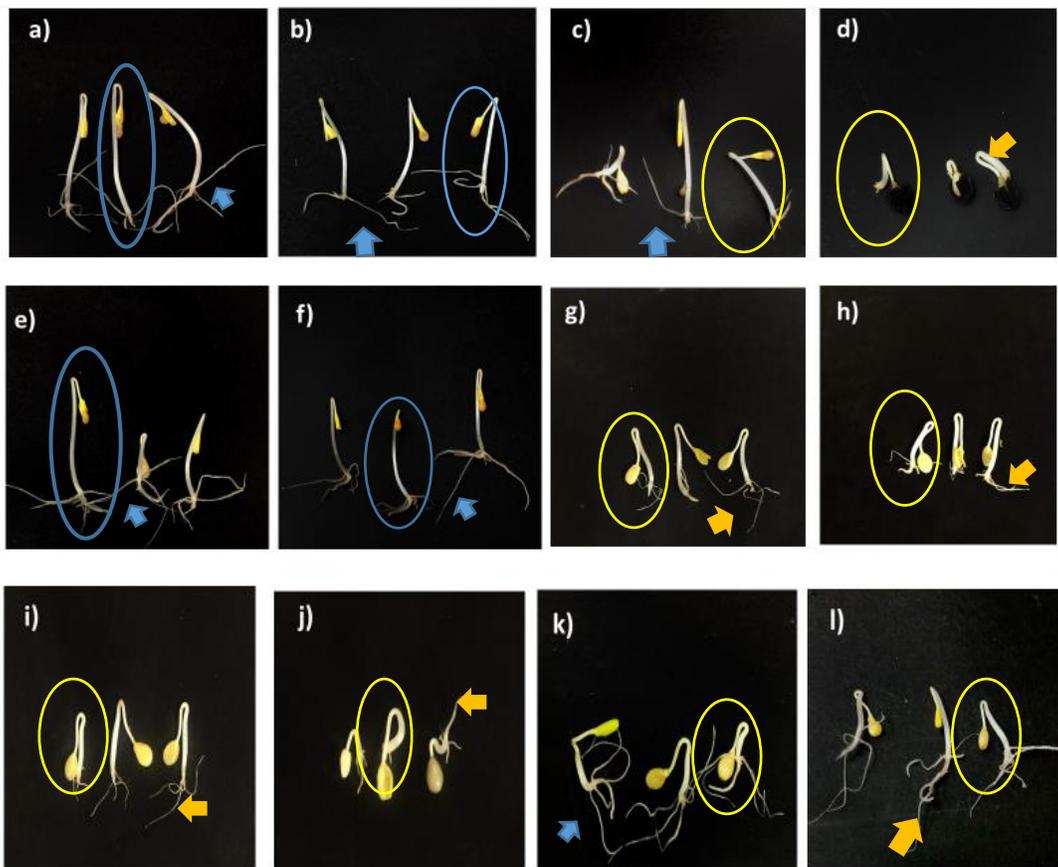
La efectividad de las rizobacterias de producir fitohormonas y aprovechar los nutrientes del medio para proveerlos a las semillas, favorecieron las características agronomicas de las plántulas y proporcionaron un mayor diametro de hipocótilo, elongacion del hipocotilo y raices

(Figura 5). Demostrando que la inoculación de semillas en bioformulados-PGPRs tiene la capacidad mejorar el proceso de germinación y crecimiento de las plántulas y generando un mayor porcentaje de semillas germinadas y plántulas saludables, resistentes y que lleguen a la fase de vivero con un buen sistema de anclaje radicular.

Figura 5

Plántulas de papaya 20 días después de la aplicación de los bioformulados PGPRs y medios sin PGPRs.

- a) 20ul BIOIM+CHA0+2/4; b) 40ul BIOIM+CHA0+2/4; c) 20ul BIOQ+CHA0+2/4; d) 40ul BIOQ+CHA0+2/4; e) 20ul PGPR4+CHA0+2/4; f) 40ul PGPR4+CHA0+2/4; g) 20ul BIOIMPULSE h) 40ul BIOIMPULSE; i) 20ul PGPR s 4N j) 40ul PGPR s 4N k) 20ul Agua l) 40ul Agua.



Nota: Flechas azules (elongación en la longitud de raíces), flechas amarillas (nula elongación de raíces), círculos azules (elongación de hipocótilo), círculos amarillos (nula elongación de hipocótilo)

4.2 Efecto del Bioformulado-PGPRs sobre el Incremento del Sistema Radicular

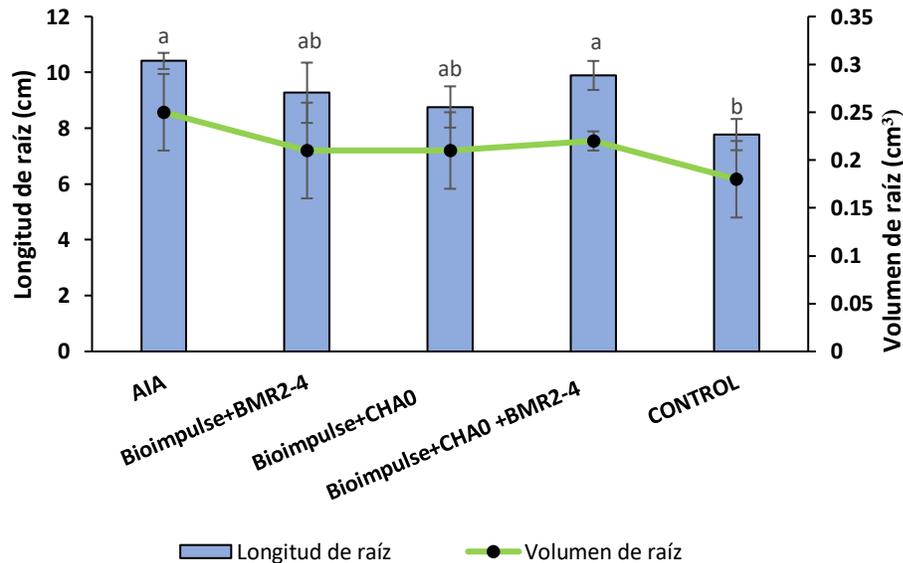
4.2.1 Efecto de Bioformulado PGPRs sobre el Incremento del Sistema Radicular de Plántulas de Papaya hawaiana (*Carica papaya L*)

4.2.1.1 Volumen y Longitud de Raíz

Las plántulas inoculadas con el bioformulado-PGPRs presentaron una mayor longitud de la raíz respecto al control, el bioformulado con el consorcio de las cepas *P. protenges* CHA0 y *P. putida* BMR 2-4 presentaron un promedio de 9.89 cm estadísticamente similar al control positivo AIA con 10.41 cm, mientras que el control presentó una longitud de 7.77 cm, generando un coeficiente de varianza de 7,46%, En cuanto al volumen de la raíz los tratamientos generaron promedios similares sin diferencia significativa con un coeficiente de varianza del 18,36% (Figura 6).

Figura 6

Volumen y longitud de raíz de plántulas inoculadas con bioformulado-PGPRs.



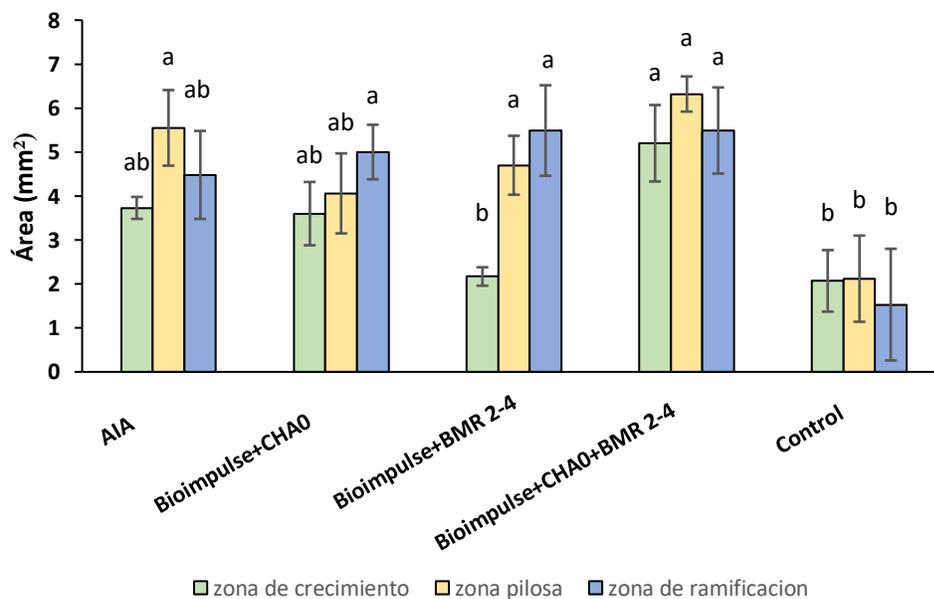
*Las barras indican \pm Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

4.2.1.2 Área de Pelos Absorbentes

Al evaluar el área que ocupa los pelos absorbente en las raíces de plántulas de papaya en una imagen 9 mm^2 en tres diferentes zonas de la raíz se obtuvo como resultado que la presencia de bioformulado-PGPRs estimula el crecimiento e incrementa la presencia de pelos absorbentes en la raíz, en la zona de crecimiento presentó un coeficiente de varianza de 27,59%, el control presentó una baja presencia de pelos absorbentes que ocupaban una área de 2.07 mm^2 de la imagen mientras la aplicación de bioformulado con la cepa BMR 2-4, CHA0, y el consorcio CHA0+BMR 2-4 presentaron los promedios de 3.6 mm^2 , 2.17 mm^2 y 5.2 mm^2 respectivamente. El control positivo AIA un promedio de 3.73 mm^2 , en la zona pilosa en la cual se debe presentar una mayor presencia de pelos absorbentes se generó un coeficiente de varianza de 22,77 %, el bioformulado con el consorcio CHA0+ BMR 2-4 obtuvo el promedio más alto con 6.32 mm^2 , mientras el control tuvo un promedio de 2.12 mm^2 , en la zona de ramificación con un coeficiente de varianza de 17,42% de igual manera la aplicación de bioformulado presentó mayor presencia de pelos absorbentes a comparación del control.

Figura 7

Área de pelos absorbentes en raíces de plántulas inoculadas con bioformulados-PGPRs.



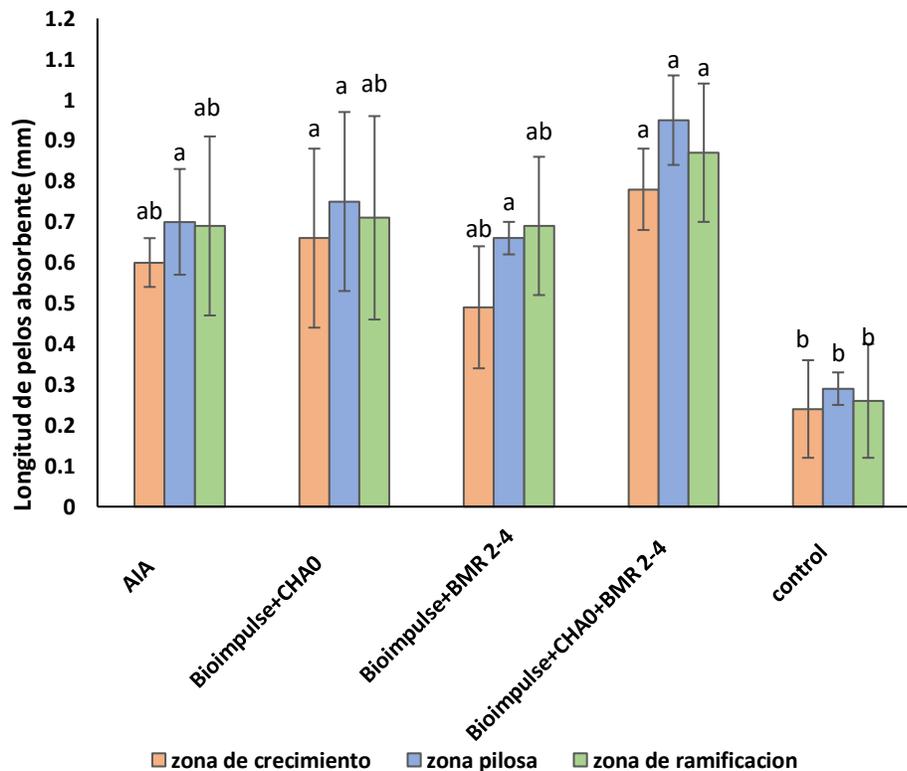
*Las barras indican \pm Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

4.2.1.3 Longitud de Pelos Absorbentes

Con la misma imagen que se evaluó el área que ocupan los pelos absorbentes se midió la longitud en mm de los mismo, en la zona de crecimiento se obtuvo un coeficiente de varianza del 23,78%, el bioformulado con el consorcio de CHA0+BMR2-4 obtuvo el promedio mas alto con 0.78 mm seguida por el bioformulado con la cepa BMR2-4 mientras el control presentó un promedio de 0.24 mm, la zona pilosa con un coeficiente de varianza del 30%, presentó el promedio mas alto en el bioformulado con el consorcio de CHA0+ BMR2-4 con 0.95 mm seguida por el bioformulado con la cepa CHA0 con un promedio 0.75 mm, en la zona de ramificacion se genero un coeficiente de varianza del 18,92%, de igual manera el bioformulado con el consorcio obtuvo el promedio mas alto con 0.87 mm (Figura 9).

Figura 8

Longitud de pelos absorbentes en raíces de plántulas inoculadas con bioformulados-PGPRs.

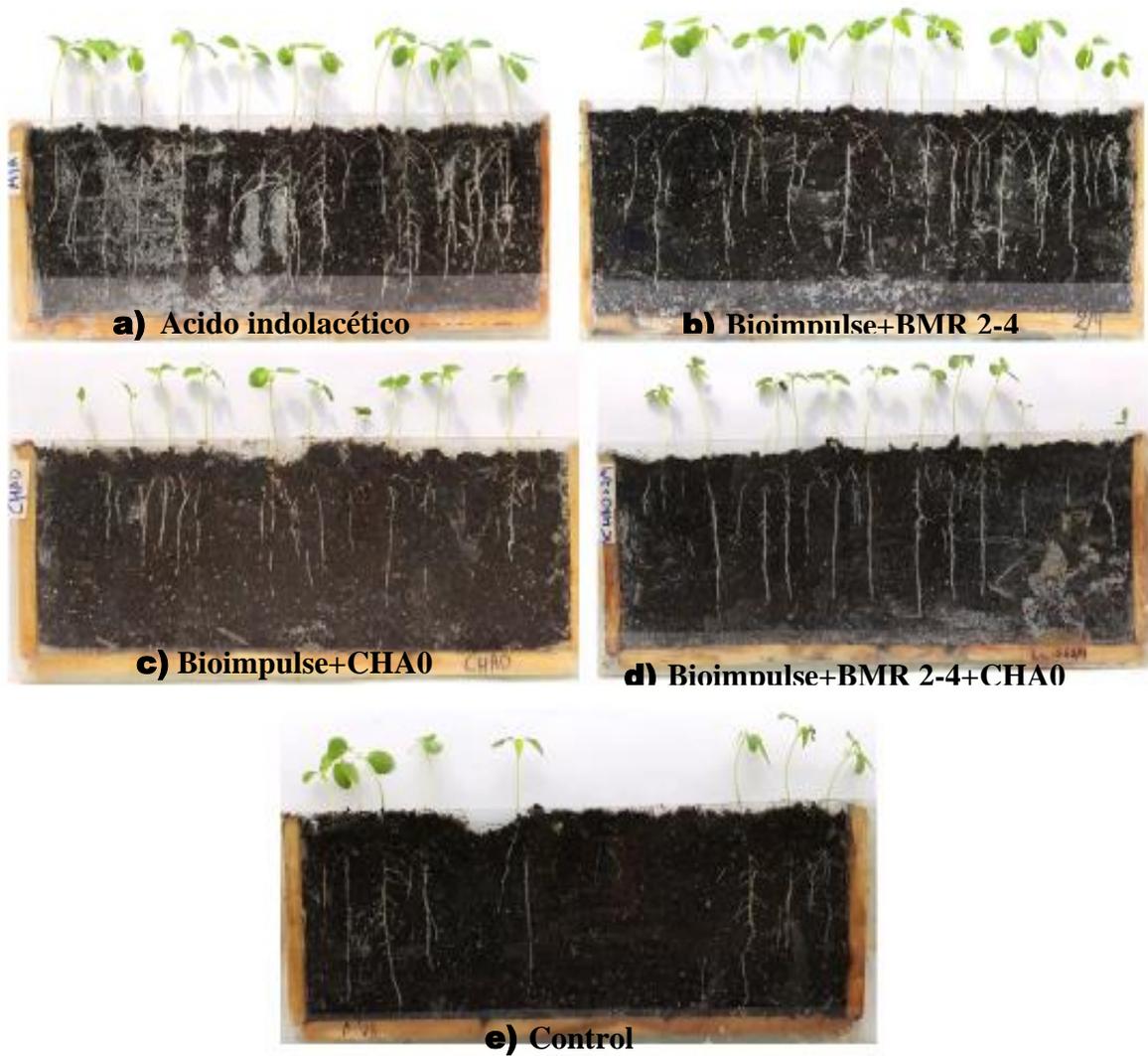


*Las barras indican \pm Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey)

Figura 9.

Plántulas de papaya hawaiana en rizotrones 15 días después de la siembra.

- a) Acido indolacético, b) Bioimpulse+BMR 2-4, c) Bioimpulse+CHA0,
d) Bioimpulse+BMR 2-4+ CHA0, e) Control



La adición de los bioformulados-PGPRs demostraron una respuesta positiva en el incremento de pelos absorbentes, de modo similar al tratamiento con AIA donde se verifica una mayor presencia de los mismos, a diferencia de las semillas que no fueron tratadas con las rizobacterias estas carecen de pelos absorbentes (Figura 10, 11, 12, 13 y 14). Este parámetro agronómico es esencial para mejorar la absorción de nutrientes y minerales por parte de las plantas, ayudando a fortalecer el desarrollo de la planta en la etapa de vivero y una mayor adaptabilidad en campo definitivo.

Figura 10

Raíces y pelos absorbentes de plántulas tratadas con ácido indolacético AIA



Figura 11

Raíces y pelos absorbentes de plántulas tratadas con bioformulado de la cepa P. putida BMR 2/4.

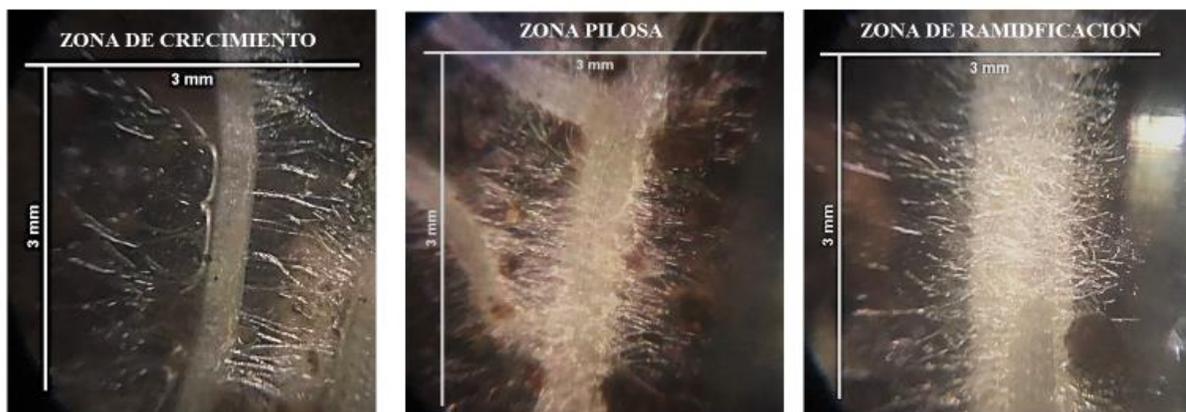


Figura 12

Raíces y pelos absorbentes de plántulas tratadas con bioformulado de la cepa P. protegens CHA0.

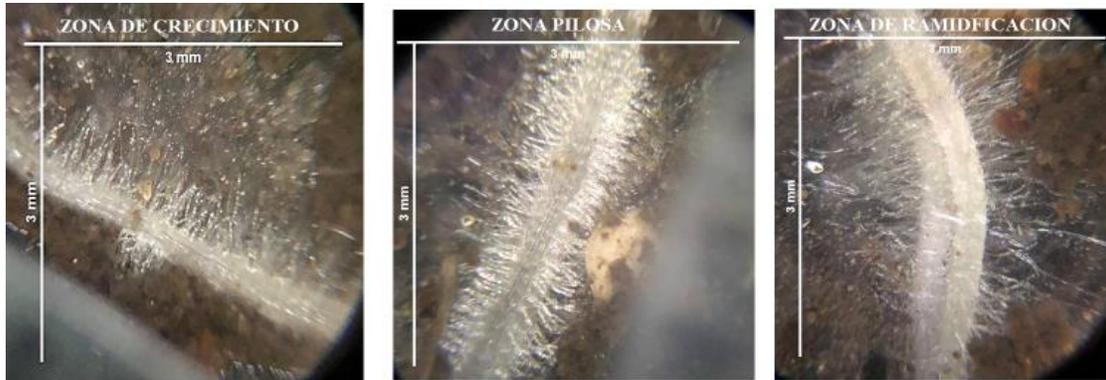


Figura 13

Raíces y pelos absorbentes de plántulas tratadas con bioformulado del consorcio de cepa P. putida 2/4 y P. protegens CHA0.

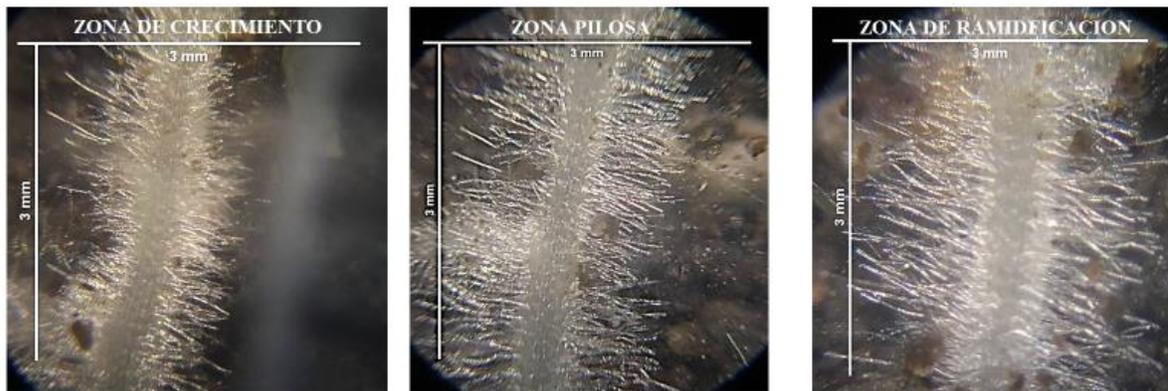
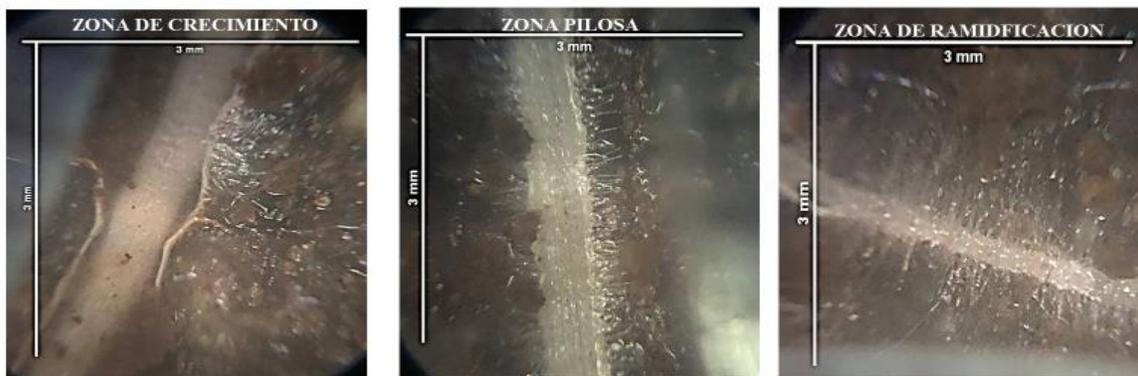


Figura 14

Raíces y pelos absorbentes de plántulas control.



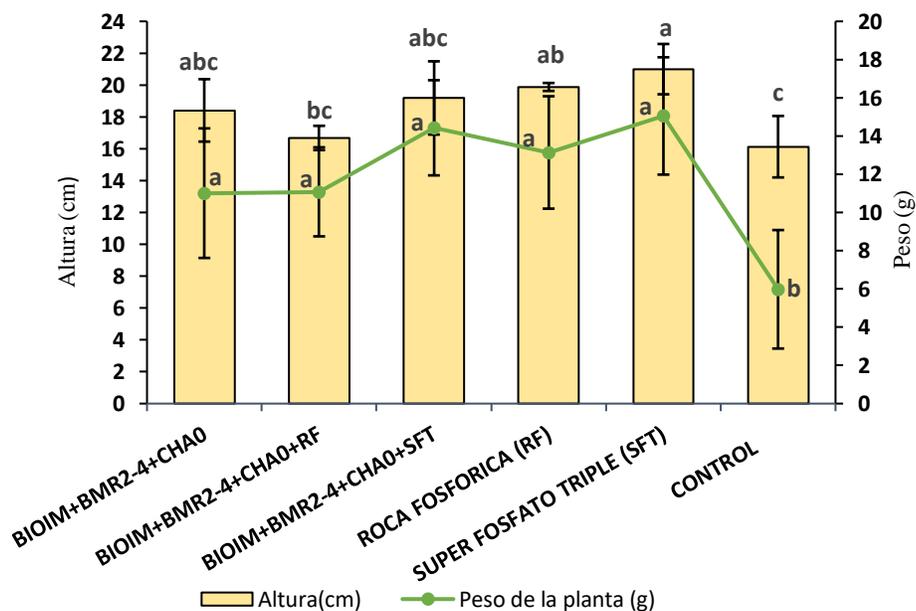
4.2.2 Evaluación de los Efectos de la Aplicación de Bioformulado-PGPRs con Fertilización Fosfatada sobre las Características Morfológicas de Plantas de Papaya Hawaiana

4.2.2.1 Altura de y Peso de la Planta

Las plantas de papaya hawaiana presentaron diferencias en cuanto la altura entre los tratamientos se generó un coeficiente de varianza de 8,81%, la aplicación de superfosfato triple (SFT) generó las plantas más altas con un promedio de 21 cm, entre los tratamientos de bioformulado-PGPRs+SFT, bioformulado-PGPRs sin fertilización fosfatada y roca fosfórica (RF) no hubo diferencia significativa, presentaron promedios de 19,19 cm, 18,41 cm y 19,88 cm respectivamente, mientras el control tuvo un promedio de 16,13 cm. En cuanto al peso total de la planta todos los tratamientos a excepción del control fueron estadísticamente similares con un coeficiente de varianza de 23,32 %, las plantas fertilizadas solo con SFT y la aplicación de bioformulado-PGPRs obtuvieron promedios de 15,05g y 11,01g respectivamente mientras el control genero un promedio de 5,98 g (Figura 15).

Figura 15

Altura y peso de plantas inoculadas con bioformulados-PGPRs y fertilización fosfatada.



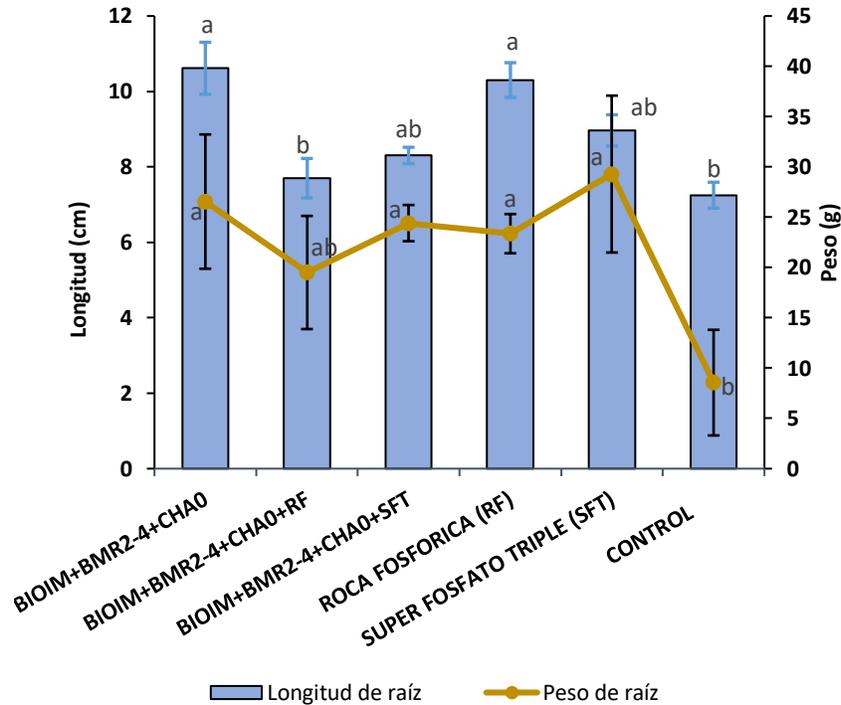
*Las barras de error indican \pm Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey)

4.2.2.2 Longitud y Peso de Raíz

En cuanto a la longitud de la raíz hubo diferencia entre los tratamientos y se obtuvo un coeficiente de variación de 12,23%, la aplicación del bioformulado-PGPRs sin fertilización generó el promedio más alto con 39,81 cm, seguido por la fertilización con Roca fosfórica con un promedio de 38,63 cm, el control alcanzo un promedio de 27,19 cm, las plantas de los tratamientos fertilizados con SFT sin bioformulado generaron promedios similares a la aplicación conjunta de SFT más bioformulado-PGPRs (Figura 14). En cuanto el peso de la raíz se obtuvo un coeficiente de varianza del 29.16%, la aplicación de bioformulado-PGPRs y SFT respectivamente se pudo notar un mayor volumen radicular en las plantas, los cuales generaron promedios de 7,81 g y 7,08 g respectivamente, mientras en las plantas control es un promedio de 2,28 g (Figura 16).

Figura 16

Longitud y peso de raíz de plantas inoculadas con bioformulados-PGPRs y fertilización fosfatada.



*Las barras de error indican \pm Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

La fertilización con bioformulados-PGPRs estimuló el desarrollo del sistema radicular de las plantas de modo semejante, a los resultados obtenidos bajo la aplicación de fertilizantes fosfatados Super fosfato triple y Roca fosfórica (Figura 17), lo que indica que el uso de rizobacterias como biofertilizante durante la etapa de vivero es una opción viable para la obtención de plantas con buen sistema radicular ya que esto es de suma importancia para un buen anclaje de las raíces al momento del trasplante.

Figura 17

Raíces de plantas tratadas con bioformulados PGPRs y fertilización fosfatada.

- a) Bioimpulse+CHA0+BMR 2/4, b) Bioimpulse+CHA0+BMR2-4+RF c) Bioimpulse+CHA0+BMR2-4 +SFT, d) RF, e) SFT, d) Control



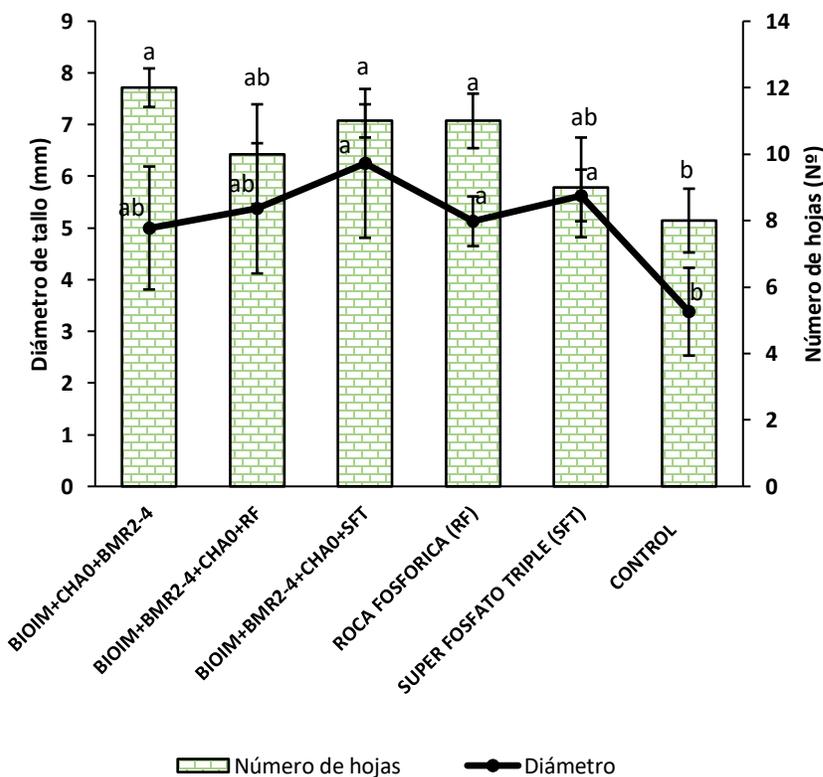
4.2.2.3 Diámetro de tallo y Número de Hojas

La aplicación de bioformulado PGPRs, estimulo el incremento del diámetro y de acuerdo al análisis de varianza se reportó un coeficiente de 16,90%, las plantas fertilizadas con SFT más bioformulado PGPRs generaron el promedio más alto de 6,25 mm, de igual manera la

aplicación solo de bioformulado PGPRs presentó un promedio similar de 5 mm, mientras que el control presentó un diámetro promedio menor de 3,38 mm. En cuanto el número de hojas se reportó un coeficiente de varianza del 14,52%, los tratamientos de bioformulado-PGPRS sin fertilización, y la aplicación de SFT presentaron los valores más alto con 12 y 11 hojas promedio respectivamente, mientras el control genero un promedio de 8 hojas, (Figura 18).

Figura 18

Diámetro de tallo y número de hojas de plantas inoculadas con bioformulado-PGPRs y fertilización fosfatada.



*Las barras de error indican \pm Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a $p < 0.05$ (test de Tukey).

La aplicación de rizobacterias a través de bioformulados provee de múltiples beneficios a las plantas como el aprovechamiento de los nutrientes disponibles en el sustrato la producción de fitohormonas, producción de sideróforos entre otros, estas ventajas han dado como resultado

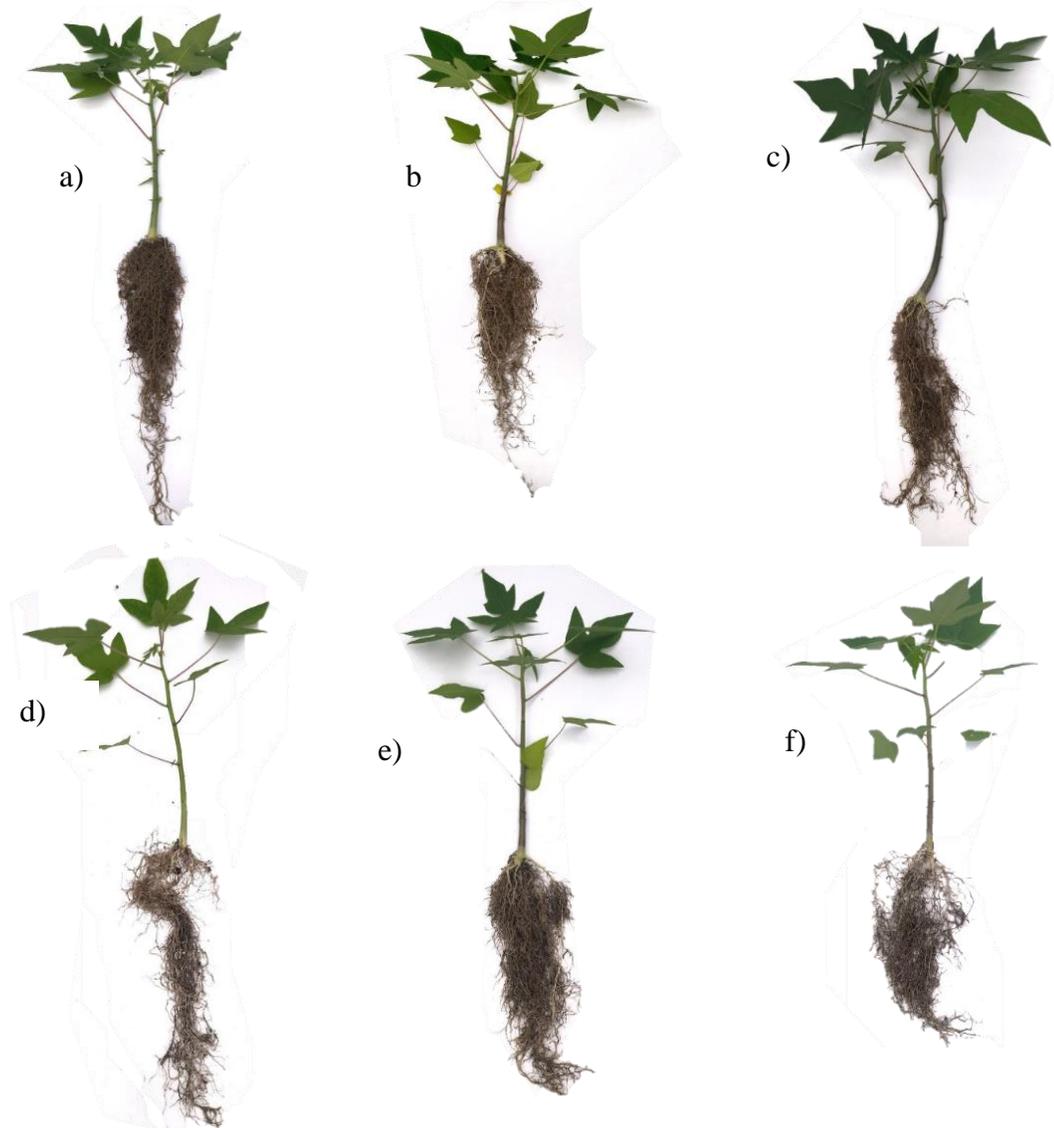
que las plantas de papaya hawaiana fertilizadas con bioformulado-PGPRs presenten parámetros agronómicos deseados como un buen sistema radicular mayor cantidad de hojas y buen crecimiento general de la planta, efectos que están a la par e inclusive superan las respuestas obtenidas al fertilizar con fuentes de fósforo (Figura 19).

Figura 19

Plantas inoculadas con bioformulado-PGPRs y fertilización fosfatada.

a) Bioimpulse+CHA0+BMR 2-4, b) Bioimpulse+CHA0+BMR 2-4+RF

c) Bioimpulse+CHA0+BMR 2-4+SFT, d) RF, e) SFT, d) Control



4.3 Discusión

Los compuestos de los medios de cultivo de las bacterias PGPRs para la elaboración del bioformulado generaron diferencias en las respuestas de la semilla bajo la aplicación de los mismo. Bharathi (24) menciona que el crecimiento de la población microbiana depende en gran medida de la elección del vehículo de formulación, la fuente de nitrógeno y la eficiencia de liberación de la fuente de carbono para mejorar la tasa de supervivencia y mantener la población microbiana en el suelo Wong *et al.*, (25), en la elaboración de los bioformulados BIOQGPRs fue el medio que poseía urea que generó un mayor crecimiento microbiano que no fue tolerable para las semillas y por ende se obtuvo un bajo nivel de germinación. Según Widawati (26), establece que la melaza desecho de la producción de azúcar contemplan concentraciones de azufre, potasio, hierro y alto contenido de micronutrientes y componentes fermentables como la glucosa, sacarosa y fructosa lo que concuerda con Chaudhary *et al.*, (27). Mishra *et al.*, (29) menciona que la harina de trigo como principal vehículo que sirve como fuente de carbono para el crecimiento microbiano (29), además Adoko *et al.*, (9) , establece que protegen las células microbianas del estrés ambiental, mejoran el control de enfermedades al aumentar la producción de metabolitos antimicrobianos. El sulfato de magnesio provee los cationes necesarios que incrementan la producción de fluoresceína. El glicerol para brindar protección contra el estrés osmótico Nopcharoenkul (31). Estas afirmaciones concuerdan con los resultados obtenidos en la investigación ya que el bioformulado bioimpulse que contenía dichos elementos generó el mayor porcentaje de germinación y características morfológicas sobresalientes lo que indica que es el medio propicio para la elaboración de bioformulados. Los estudios realizador por Rocha (32) han demostrado que recubrir las semillas con rizobacterias PGPRs puede ayudar a la germinación de las plántulas, con una fertilización química reducida (32).El biocebado o tratamientos pregerminativo utilizando microorganismos generó un mayor porcentaje de germinación y mayor vigorosidad en las plantas lo que concuerda con Ravishankar (20) que ha demostrado que la aplicación de ácido giberélico 150 ppm con *Azotobacter*, bajo remojo por 12 horas obtuvo una mejora de los parámetros de germinación y el vigor de las plántulas de papaya (*Carica papaya* L.) (20).En los ensayos establecidos por Amer y Utkhede (32), utilizaron vermiculita como bioformulado incorporando *B. subtilis* y *P. putida* demostraron acelerar la

tasa de germinación en las semillas de lechuga (*L. sativa*) y pepino (*C. sativus*) con un 100% (33).

Los productos bioformulados contienen células microbianas vivas de bioinoculantes que también ayudan en el tratamiento de semillas Ganeshamoorthi *et al.*, (34). Estudios realizados por Rebelo con formulaciones bacterianas liofilizadas con *P. putida* bajo cápsula, incrementaron tasa de germinación en el suelo después de una semana en el cultivo de maíz (*Z. mays*). El biocebado proporciona una cantidad suficiente de bacterias permitiendo la entrada de estas dentro de la semilla Ahmad (35), para promover el crecimiento de las plantas al producir sustancias reguladoras de crecimiento, mejorar la absorción de nutrientes y proteger de enfermedades transmitidas por semillas o suelos Mitra (16). El mejor resultado obtenido por Marquina *et al* (18), en condiciones *in vitro* en el medio MS con triptófano 0,05 mg·mL⁻¹, o sin triptófano en las plántulas de pimentón inoculadas con *Sinorhizobium* sp Leu2A (1)2, incrementaron 30 y 31 % la longitud y peso seco del vástago, respectivamente, y 47,6 % en la longitud y 58,4 % en el peso seco de la parte radical. Según Jaramillo *et al.*, (36), detalla que la exposición directa de las hojas de ‘Thompson Seedless’ por *P. veronii* R4 genero entre 14 raíces por hoja con abundante producción de raíces laterales, *P. fluorescens* CHA0 y AIA (0.1 mg L⁻¹) y sin bacteria, mostraron efecto en producción de sistema radicular de tres raíces por hoja. El tratamiento pregerminativo o la inoculación de plantas o semillas con bacterias promotoras de crecimiento vegetal genera un aumento en características como numero de raíces, hojas mejora la longitud de hipocótilo incrementa el peso de la planta, esto se da debido a que el biocebado permite el ingreso de dichas bacterias a la semilla y de esta manera pueda aprovechar los beneficios que ofrecen, como la producción de fitohormonas a las que se le atribuye el incremento radicular, la activación de la defensa de la planta generando mayor resistencia a ataques de patógenos.

Utilizando rizotrones para determinar las interacciones planta-microorganismo de crecimiento de las raíces de papaya. En base a los resultados obtenidos bajo la aplicación del Bioformulado en consorcio con rizobacterias CHA0 y BMR2-4 se obtuvieron mayor incremento en las variables de longitud radicular, área y longitud de pelos absorbentes en comparación a la aplicación individual de las rizobacterias y el control. Los estudios realizados por Pérez-de-Luque *et al.*, (37), utilizando rizotrones revelaron que *P. putida* aumento significativamente la densidad de arbusculos en las raíces de trigo (*Triticum aestivum* L.)

variedad Mercado. Concordando con Volkmar *et al.*, (38), emplearon ensayos en semillas trigo con *P. fluorescens* bajo condiciones abióticas, los rizotrones no inundados tenían más raíces en la profundidad del suelo de 120 a 180 cm que los rizotrones inundados (264 cm vs 297 cm en el suelo) pero aumentó el crecimiento de raíces en la profundidad de 90 a 120 cm. Por el contrario, el crecimiento de las raíces en la profundidad de 90 a 120 cm se redujo mediante la inoculación en rizotrones bien regados, estos resultados concuerdan con lo obtenido en la investigación ya que la inoculación con bioformulado-PGPRs aumento la longitud de las raíces en comparación al control. Yobo *et al.*,(39), revela un aumento en la biomasa seca de brotes y raíces y el área de la raíz de las plántulas de frijol como resultado de las inoculaciones con *Bacillus* B69, *Bacillus* B77, *T. atroviride* cepa 6 y una combinación de *T. atroviride* cepa 6 y *Bacillus* B69. La máxima biomasa seca de los brotes se obtuvo cuando se inocularon conjuntamente la cepa 6 de *T. atroviride* y *Bacillus* B69. Los aislamientos hechos por Ugoj., *et al* (40) B77 y B81 lograron un biocontrol de 24 y 35% respectivamente en cuanto a biomasa seca aérea mientras que B81 logró un 48% para área radicular con biomasa seca de brotes y raíces, logrando una actividad de biocontrol del 18 y 11 % a *R. solani* en el cultivo de maíz. Zafar *et al.*, (41) explican que bacterias que secretan bajos niveles de AIA (0,1 a 1,00 gr), estimulan la elongación de raíces, mientras que bacterias altamente productoras de auxinas promueven la formación de raíces laterales o el desarrollo de pelos absorbentes, *P. putida* y *P. protegens* han reportado ser productoras de ácido indolacético lo que en esta investigación se vio evidenciado en la elongación de los pelos absorbentes y una mayor presencia de los mismos.

La aplicación de bioformulado PGPRs con fertilizaciones y sin fertilización fosfatada generaron plantas vigorosas de acuerdo con Prakash y Arora, (42), utilizaron un bioformulado a base de *B. safensis* en el cultivo de *S. rebaudiana* bajo aplicación de tratamiento foliar, edáfica y en conjunto mejoro peso fresco y seco de las variables del sistema radicular, incremento del vástago y hojas a los 60 y 90 días después de la inoculación. concordando con Raj *et al.* (43), utilizaron un bioformulado a base de polvo de cascara de plátano con *P. fluorescens* mejoro la longitud radicular 15,24 cm, altura de planta 18 cm y diámetro del tallo 5.50 cm en comparación con el control que tuvo 9,60 cm de altura cm en el día 21 de la siembra de semillas. Rolan *et al.*, (43). En el experimento en macetas por Roslan., *et al* (44), la aplicación de PGPR y melaza aumentó la longitud de raíces y brotes, y también el peso seco de raíces y brotes. La mayor

longitud de raíces y brotes, peso seco de raíces y brotes se obtuvo con semillas tratadas en combinación con inoculación mixta de PGPR y melaza (44). Lo que concuerda con los resultados obtenidos ya que las plantas que se inocularon con el bioformulado presentaron un mayor peso radicular y número de hojas respecto al control. En este estudio establecido por Raza *et al.*, (45) se emplearon bacterias del género *Azospirillum* Er-20 (fijador de N) y *Agrobacterium* Ca-18 (solubilizador de P) inoculadas bajo una fertilización inorgánica de Nitrógeno (N) baja del 75 % produjo rasgos similares en comparación a la fertilización completa de N del 100 % alterando significativamente todos los rasgos de crecimiento, los atributos bioquímicos y los rasgos relacionados con el rendimiento en el cultivo de chile (*Capsicum frutescens* L.). Concordando con Amogou *et al.*, (46), revela mejores resultados para altura, biomasa fresca subterránea, biomasa seca aérea, biomasa seca subterránea y rendimiento de grano con incrementos respectivos de 41.09%, 217.5%, 213.34%, 93.82%, y 39,05% con respecto al control al aplicar *S. marcescens* + 50% NPK a los 15 días después de la emergencia en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). *B. amyloliquefaciens* IN937a y *B. pumilus* T4, un producto PGPR formulado, y el hongo micorriza arbuscular (AMF), *G.intraradices*. Los resultados mostraron que la suplementación del 75 % de la tasa de fertilizante recomendada con inoculantes produjo un crecimiento de la planta, rendimiento y absorción de nutrientes (nitrógeno y fósforo) que fueron estadísticamente equivalentes a la tasa completa de fertilizante sin inoculantes en tomate (*S. lycopersicum*) Adesemoye *et al.*, (47). Gopi., *et al* (48) encontró que la aplicación de PGPRs mix-I por debajo del 50 % de suministro de NPK como fertilizante químico estaba a la par con el fertilizante químico solo a una dosis del 100 %. Los resultados indican que es posible un ahorro del 50 por ciento en el suministro de fertilizantes químicos mediante la aplicación de la formulación mejorada de PGPR mix-I en el amaranto (48), de igual manera en las plantas de papaya se utilizó una dosis muy baja de fertilizante y de igual manera de obtuvieron buenos resultados en los parámetros evaluados. Se sabe las rizobacterias (PGPR) influyen en el crecimiento de las plantas a través de la producción de fitohormonas, la solubilización de fosfato, la fijación de nitrógeno (N) y la actividad antimicrobiana Melo., *et al* (49), se encuentran en la rizosfera del suelo donde estarán bien posicionados para colonizar las raíces de las plántulas y proteger contra enfermedades y plagas transmitidas por el suelo O'Callaghan (50) hacer que los nutrientes sean solubles para que estén disponibles para las plantas y mejorar las propiedades físicas y bioquímicas del suelo Ali., *et al* (51).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- La inoculación con 20 ul por semilla con las cepas *Pseudomona protenges* y *Pseudomona putida* en medio de cultivo bioimpulse generó un porcentaje de germinación de 84% y estimuló el crecimiento de las plántulas con una longitud de hipocótilo de 2.63 cm y un peso total promedio de 58.15 mg.
- La aplicación del bioformulado Bioimpulse con el consorcio de PGPRs *P. protenges* y *P. putida*, generó un incremento en la longitud de las raíces con promedios de 9.89 cm además el área y longitud de los pelos absorbentes fue mayor y similar a las inoculadas con AIA, es decir que la inoculación en semillas y suelo con bioformulado- PGPRs tuvo un efecto benéfico al incrementar el sistema radicular de plántulas de papaya hawaiana (*Carica papaya*)
- La aplicación de bioformulado-PGPRs generó plantas con el mayor peso y longitud de raíz con promedios de 39.81 cm y 7,81 g, la respuesta de las características morfológicas bajo aplicación de bioformulado llegaron a ser similares a las realizadas conjuntamente de fertilización con fuentes de fosforo lo que indicaría que el uso de estos bioformulados-PGPRs puede remplazar o combinarse con la fertilización fosfatada en la etapa de vivero siempre y cuando se tenga un sustrato óptimo y de esta manera obtener plántulas sanas y vigorosas con un excelente sistema radicular para el trasplante.

5.2 Recomendaciones

- Determinar el efecto de la continua aplicación de bioformulado-PGPRs durante la etapa de crecimiento y producción en campo conjuntamente con bajas dosis de fertilizantes químicos.
- Determinar la presencia de la auxina ácido indol acético y cuantificar su producción por espectrofotómetro.
- Evaluar el efecto de resistencia a patógenos bajo ampliación de bioformulados PGPRs en cultivo de *Carica papaya L*

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1 Bibliografía

1. Jimenez Días JA. El cultivo de la papaya hawaiana. CR: Earth. [Internet]. 2002 [Citado 2022 Agosto 12]; 1(1): 108 p. Disponible en: <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/90022688.pdf>
2. SOLAGRO. La solución para el Agro. Una empresa del grupo avgust crop protection. [Internet]. 2022 [Citado 2022 Agosto 12]; Disponible en: <https://avgust.com.ec/papaya-2/>
3. Constantino Antonio M, Efecto de la biofertilización en el crecimiento y nutrición de plántulas de papaya (*Carica papaya* L. cv. Maradol) (Doctoral dissertation. El Colegio de la Frontera Sur) Ecosur. [Internet]. 2010 [Citado 2021 Agosto 12]. Disponible en: https://ecosur.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1017/1686/1/100000036708_documento.pdf
4. Raya Ramallo V. Requerimientos nutritivos para el cultivo de papaya en Canarias, Finca estación (ICIA). Instituto Canario de Investigaciones Agrarias[Internet]. 2015 [Citado 2022 Agosto 14]. Disponible en: <https://vdocumento.com/requerimientos-nutritivos-del-cultivo-de-papaya-en-del-cultivo-de-papaya-en.html?page=1>
5. Ramirez Zuleta EA. Efecto de consorcios PGPRs sobre el desarrollo de plantas de *Plukenetia volubilis* Y *Moringa oleífera* hasta fase vegetativa en comparación a fertilización convencional y orgánica en campo. Universidad de Santander, Facultad de Ciencias exactas, naturales y agropecuarias, Microbiología industrial. [Internet]. 2019 [Citado 2022 Agosto 14]. Disponible en: <https://repositorio.udes.edu.co/handle/001/4354>
6. Aaamir M, Kumar Rai K, Zenhra A, Kumar Dubey M, Kumar S, Shukla V, Upadhyay RM. Microbial bioformulation-based plant biostimulants: a plausible approach toward next generation of sustainable agriculture. *Rev. Microbial Endophytes, Functional*

- Biology and Applications. [Internet]. 2020 [Citado 2022 Agosto 14]; 1(1): 195-225. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128196540000089?via%3Dihub>
7. Jimenez Días J. El cultivo de la papaya hawaiana. CR: Earth. [Internet]. 2002 [Citado 2022 Agosto 12]; 1(1): 108 p. Disponible en: <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/90022688.pdf>
 8. Alvarez T, Diaz M. Las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) en la agricultura. [Internet]. 2021 [Citado 2022 Agosto 28]; 1(1). Disponible en: Las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) en la agricultura - Engormix
 9. Granda Villagomez M, Estudio de pre-factibilidad para la exportación de papaya al mercado canadiense en el periodo 2020-2025. PUCE, Facultad de Comunicación lingüística y literatura. [Internet]. 2021 [Citado 2022 Agosto 28]; 1(1). Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/19055>
 10. Atlas Big. Producción mundial de papaya por país. [Internet]. 2021 [Citado 2022 Agosto 28]; 1(1). Disponible en: <https://www.atlasbig.com/es-es/paises-por-produccion-de-papaya>
 11. García M. Guía técnica del cultivo de la papaya. Programa Mag-Centa-Frutales. Centro de tecnología Agropecuaria Forestal Enrique Álvarez Córdova. [Internet]. 2010 [Citado 2022 Agosto 28]; 1(1). Disponible en: <https://webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual/biblioteca%20virtual/documentos%20web/0002534-addocgg.pdf>
 12. Chóes Tigua JE. Evaluación de cuatro tipos de sustratos para la producción de plántulas de papaya (*Carica papaya L.*) en fase de vivero en el cantón Jipijapa, provincia de Manabí. Universidad Estatal del Sur de Manabí, Facultad de Ciencias Naturales y de la

- Agricultura, carrera de ingeniería agropecuaria. [Internet]. 2010 [Citado 2022 Agosto 28]; 1(1). Disponible en: <http://repositorio.unesum.edu.ec/handle/53000/2550>
13. Adeess, Asociación para el desarrollo Eco-sostenible adees Somotillo-Chinadega. Proyecto; “Apoyo al desarrollo agropecuario integral con enfoque de género y medioambiental en Chinandega norte”, financiado por la Agencia Andaluza de Cooperación Internacional - AACID – 2009 -2010. Guía para la producción de papaya. [Internet]. 2010 [Citado 2022 Agosto 28]; 1(1). Disponible en: <http://www.adeesnic.org/wp-content/uploads/2010/04/guia-para-produccion-de-papaya.pdf>
14. Gil AI, Miranda D. Aspectos anatomicos de la semilla de papaya. Rev. Colombiana de Ciencias Horticolas. [Internet]. 2011 [Citado 2022 Agosto 30]; 2(2), 145–156. Disponible en: https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias_horticolas/article/view/1183
15. Cedeño Sánchez JH. Influencia del remojo de semillas en solución bioestimulante sobre la germinación y vigor de plántulas de papaya CV. nacional (Carica papaya L.). Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Ingeniería Agronómica. [Internet]. 2015 [Citado 2022 Septiembre 04]; 1(1). Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/4286>
16. Constantino M, Gómez Álvarez R, Álvarez Solis J, Pat Ferndandez J, Espín G. Efecto de la biofertilización y los biorreguladores en la germinación y el crecimiento de Carica papaya L. Rev. Colombiana de Biotecnología. [Internet]. 2010 [Citado 2022 Septiembre 04]; 7(2) 103-115. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77617808008>

17. Mitra D, Mondal R, Khoshru B, Shadangi S, Das Mohapatra P, Panneerselvam P. Rhizobacteria mediated seed bio-priming triggers the resistance and plant growth for sustainable crop production. *Current Research in Microbial Sciences*. [Internet]. 2021 [Citado 2022 Septiembre 06]; 2(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100071>
18. Adoko M, Agbodjato NA, Noumavo AP, Amogou O, Adjanooun A, Baba Mousa L. Bioformulations based on plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agriculture: Biofertilizer or Biostimulant?. *African Journal of Agricultural Research*. [Internet]. 2021 [Citado 2022 Septiembre 06]; 17(9) 1256-1260. Disponible en: <https://doi.org/10.5897/ajar2021.15756>
19. Reyes Catillo A. Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPRs) y su aporte en la nutrición mineral de tomate (*Lycopersicon sculentum* L.). Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía - Doctorado en Ciencias de la Agronomía. [Internet]. 2021 [Citado 2022 Septiembre 06]. Disponible en: <http://repositorio.udec.cl/xmlui/handle/11594/935>
20. Marquina M, Ramirez Y, Castro Y. Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón *Capsicum annum* L. var. Cacique Gigante. *Bioagro*. [Internet]. 2018 [Citado 2022 Septiembre 11]; 30(1) 3-16. Disponible en: <http://ve.scielo.org/pdf/ba/v30n1/art01.pdf>
21. Yu F, Jin X, Li X, Wang H, Chen H, Zhong L, Yin J, Pan D, Yin Y, Fu J, Xia L, Bian X, Tu Q, Zhang Y. Recombineering *Pseudomonas protegens* CHA0: An innovative approach that improves nitrogen fixation with impressive bactericidal potency. *Microbiological Research*. [Internet]. 2019 [Citado 2022 Septiembre 11]; 218(1) 58-65. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.09.009>

22. Ravinshankar L, Sahu G, Panigranhi, Katiyar P. Papel del Tratamiento de semillas previo a la siembra en el comportamiento germinativo y el vigor de las plantulas de papaya (*Carica papaya*L.). *Rev. de Farmacognosia y Fitoquímica*. [Internet]. 2021 [Citado 2022 Septiembre 11]; 9(1) 039-3042.
23. He Y, Pantigoso HA, Wu Z, Vivanco JM. Co-inoculation of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas putida* at different development stages acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of tomato. *Rev. of Applied Microbiology International*. [Internet]. 2019 [Citado 2022 Septiembre 11]; 127(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jam.14273>
24. Sánchez Carrillo R, Guerra Ramírez P. *Pseudomonas* spp. benéficas en la agricultura. *Rev. Mexicana de ciencias agrícolas*. [Internet]. 2022 [Citado 2022 Septiembre 11]; 13(4). Disponible en: <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i4.2799>
25. He Y, Pantigoso H, Wu Z, Vivanco J. Co-inoculation of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas putida* at different development stages acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of tomato. *Rev. of Applied Microbiology International*. [Internet]. 2019 [Citado 2022 Septiembre 11]; 127(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jam.14273>
26. Bharathi R, Vivekananthan R, Harish S, Ramanathan A, Smiyappan R. Rhizobacteria-based bio-formulations for the management of fruit rot infection in chillies. *Crop Protection*. [Internet]. 2004 [Citado 2022 Septiembre 16]; 23(1), 835-843. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2004.01.007>
27. Wong C, Saidi N, Vadamali G, Teh C, Zulperi D. Pubmed. Effect of bioformulations on the biocontrol efficacy, microbial viability and storage stability of a consortium of biocontrol agents against *Fusarium* wilt of banana. *Rev. of Applied Microbiology*

International. [Internet]. 2019 [Citado 2022 Septiembre 16]; 127(2) 544-555. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jam.14310>

28. Suliasih, Widawati S. Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Molasses on Seed Germination and Seedling Growth of *Sorghum bicolor* L.Moench. Research Center for Plant Conservation and Botanic Gardens. [Internet]. 2017 [Citado 2022 Septiembre 16]. Disponible en: <https://publikasikr.lipi.go.id/index.php/satreps/article/view/202>
29. Chaudhary T, Dixit M, Gera R, Shukla A, Prakash K, Gupta G. Techniques for improving formulations of bioinoculants. *Biotech, National Center for Biotechnology Information*. [Internet]. 2020 [Citado 2022 Septiembre 22]; 10(5): 199. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32300515/>
30. Mishra I, Fatima T, Egamberdieva D, Kumar N. Novel Bioformulations Developed from *Pseudomonas putida* BSP9 and Its Biosurfactant for Growth Promotion of *Brassica juncea* (L.). *Feature Papers in Plant Protection*. [Internet]. 2020 [Citado 2022 Septiembre 22]; 9(10) 1349. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants9101349>
31. Kalita M, Bharadwaz M, Dey T, Gogoi K, Dowarah P, Unni BG, Ozah D, Saikia I. Developing novel bacterial based bioformulation having PGPR properties for enhanced production of agricultural crops. *Revista india de biología experimental*. [Internet]. 2015 [Citado 2022 Septiembre 23]; 53(1): 56-60. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25675713/>
32. King E, Ward M, Raney M. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. [Internet]. 1954 [Citado 2022 Septiembre 25]; 44(2): 301-7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13184240/>

33. Nopcharoenkul W, Pinphanichakarn P, Pinyakong O. The development of a liquid formulation of *Pseudoxanthomonas* sp. RN402 and its application in the treatment of pyrene-contaminated soil. *Applied Microbiology*. [Internet]. 2011 [Citado 2022 Septiembre 25]; 111(1): 36-47. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05037.x>

34. Rocha I, Ma Y, Souza Alonso P, Vosátka M, Freitas H, Oliveira RS. Seed Coating: A Tool for Delivering Beneficial Microbes to Agricultural Crops. *Frontiers in Plant Science. Sec. Plant Pathogen Interactions*. [Internet]. 2019 [Citado 2022 Septiembre 25]; 10(1): 1357. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01357>

35. Amer G, Utkhrde R. Development of formulations of biological agents for management of root rot of lettuce and cucumber. *Canadian Journal of Microbiology*. [Internet]. 2000 [Citado 2022 Septiembre 27]; 46(9): 809-816. Disponible en: <https://doi.org/10.1139/w00-063>

36. Ganeshamoorthi P, Anand T, Prakasam V, Bharani M, Ragupathi N, Samiyappan. Plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) bioconsortia mediates induction of defense-related proteins against infection of root rot pathogen in mulberry plants. *Journal of Plant Interactions*. [Internet]. 2008 [Citado 2022 Septiembre 27]; 3(4): 233-244. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/17429140802088097>

37. Ahmad M, Oguz C, Muhammad F. Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: a review. *FEMS Microbiology Ecology*. [Internet]. 2016 [Citado 2022 Septiembre 29]; 52(8): 112. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw112>

38. Peñafiel Jaramillo M, Barrera Álvarez A, Torres Navarrete E, Canchignia Martínez H, Prieto Encalada H, Morante Carriel J. Producción de ácido indol-3-acético por *Pseudomonas veronii* R4 y formación de raíces en hojas de vid “Thompson seedless” in vitro. *Rev. de Ciencia y Tecnología*. [Internet]. 2016 [Citado 2022 Septiembre 29]; 9(1): 31-36. Disponible en: <https://doi.org/10.18779/cyt.v9i1.158>
39. Pérez de Luque A, Tille S, Johnson I, Pascual Pardo D, Ton J, Cameron D. The interactive effects of arbuscular mycorrhiza and plant growth-promoting rhizobacteria synergistically enhance host plant defences against pathogens. *Scientific Reports*. [Internet]. 2017 [Citado 2022 Septiembre 29]. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16697-4>
40. Volkmar K, Bremer E. Effects of seed inoculation with a strain of *Pseudomonas fluorescens* on root growth and activity of wheat in well-watered and drought-stressed glass-fronted rhizotrons. *Canadian Journal of Plant Science*. [Internet]. 1998 [Citado 2022 Septiembre 29]; 78(4): 545-551. Disponible en: <https://doi.org/10.4141/P97-129>
41. Yobo KS, Laing MD, Hunter CH. Effects of single and combined inoculations of selected *Trichoderma* and *Bacillus* isolates on growth of dry bean and biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off. *African Journal of Biotechnology*. [Internet]. 2011 [Citado 2022 Octubre 1]; 10(44): 8746-8756. Disponible en: <https://doi.org/10.5897/AJB10.2213>
42. Ugoji E, Laing MD. Rhizotron studies on *Zea mays* L. to evaluate biocontrol activity of *Bacillus subtilis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. [Internet]. 2007 [Citado 2022 Octubre 1]; 24(1): 269-274. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9466-8>

43. Zafar M, Abbasi MK, RN, Khaliq A, Shaheen A, Jamil M, Shahid M. Effect of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Growth, Nodulation and Nutrient Accumulation of Lentil Under Controlled Conditions. *Pedosphere*. [Internet]. 2012 [Citado 2022 Octubre 1]; 22(6): 848-859. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(12\)60071-X](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(12)60071-X)
44. Prakash J, Arora NK. Development of *Bacillus safensis*-based liquid bioformulation to augment growth, stevioside content, and nutrient uptake in *Stevia rebaudiana*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. [Internet]. 2019 [Citado 2022 Octubre 1]; 36(1):1-13. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2783-x>
45. Raj R, Preethy H, Rex K. Development of Banana Peel Powder as Organic Carrier based Bioformulation and Determination of its Plant Growth Promoting Efficacy in Rice Cr100g. *Jorunal of Pure and Applied Microbiology*. [Internet]. 2021 [Citado 2022 Octubre 1]; 15(3):1279-1290. Disponible en: <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.3.18>
46. Roslan M, SI, Ling PS, Sobri Z, ZA, Cheak S, et al. Sustainable Agronomic Valorization of Unsulfured Molasses and Defatted Soybean Meal as an Optimized Formulation of Bio-Organic Fertilizer Enriched with High Cell Density P-Solubilizing Bacteria. *Agronomy. Development and Application of Sustainable Organic Fertilizer*. [Internet]. 2021 [Citado 2022 Octubre 1]; 11(5):996. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/agronomy11050996>
47. Raza A, Ejaz S, Saleem M, Hejnak V, Ahmad F, Ahmed M, et al. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and yield related attributes of chili under low nitrogen availability. *Plos One*. [Internet]. 2021 [Citado 2022 Octubre 1]; 16(12). Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261468>

48. Amogou O, Dagbénonbakin G, Agbodjato N, Noumavo P, Salako K, Baba-Moussa. Influence of Isolated PGPR Rhizobacteria in Central and Northern Benin on Maize Germination and Greenhouse Growth. *American Journal of Plant Sciences*. [Internet]. 2018 [Citado 2022 Octubre 6]; 9(13): 2775-2793. Disponible en: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=89651>
49. Adesemoye A, Torbert H, Kloepper W. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Allow Reduced. [Internet]. 2009 [Citado 2022 Octubre 6]; 58(1): 921-929. Disponible en: <https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1562&context=plantpathpapers>
50. Gopi G, Meenakumari K, Anith K, NN, SP. Application of liquid formulation of a mixture of plant growth promoting rhizobacteria helps reduce the use of chemical fertilizers in Amaranthus (*Amaranthus tricolor* L.). *Rhizosphere*. [Internet]. 2020 [Citado 2022 Octubre 11]; 15(1): 921-929. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100212>
51. Melo J, Carolino M, Carvalho L, Correia P, Tenreiro R, Chaves S, Mleiro A, Sousa S, Dias T, Cruz C, Ramos A. Crop management as a driving force of plant growth promoting rhizobacteria physiology. *Sprinder Plus* . [Internet]. 2016 [Citado 2022 Octubre 11]; 5(1). Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1186/s40064-016-3232-z.pdf>
52. O'Callaghan M. Microbial inoculation of seed for improved crop performance: issues and opportunities. *Applied microbiology and biotechnology*. [Internet]. 2016 [Citado 2022 Octubre 11]; 100(1): 5729-5746. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00253-016-7590-9.pdf>

53. Ali N, Ilyas F, Arshand M, Hussain S, Iqbal M, Ahmad S, et al. Microbial inoculation of seeds for better plant growth and productivity. In Priming and pretreatment of seeds and seedlings. [Internet]. 2019 [Citado 2022 Octubre 11]; 523-550. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1_26
54. Moreno Reséndez A, García Mendoza V, Reyes Castillo J, Vásquez Arroyo J, Cano Ríos P. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. Rev. Colombiana de biotecnología. [Internet]. 2018 [Citado 2022 Octubre 18]; 68-83. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v20n1/0123-3475-biote-20-01-68.pdf>

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo A. Elaboracion e inoculacion de bioformulado en semillas.



a. Bioformulados-



b. Selección y desinfección de semillas



c. Distribución de semillas en bandejas



f. Evaluación de variables



e. Germinación



de



d. Inoculación de semillas

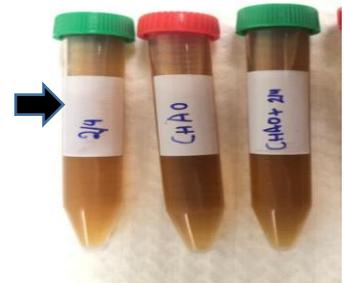
Anexo B. Efecto de los Bioformulados PGPRs sobre el incremento del sistema radicular.



a. Diseño y elaboración de



b. Inoculación de



c. Elaboración de bioformulado



d. Observación de nelos absorbentes



e. Plántulas en rizotrones



f. Siembra en rizotrones

Anexo C. Efecto de aplicación de Bioformulados-PGPRs y fertilización fosfatada.



a. Preparación de sustrato



b. Semilla



c. Plantas en bandeja



d. Trasplante



e. Aplicación de tratamientos



f. Evaluación de variables

Anexo D. Analisis de varianza de porcentaje de germinación.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% GERMINADAS	56	0,77	0,70	15,49

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13235,71	13	1018,13	10,93	<0,0001
BIOFORMULADO	13235,71	13	1018,13	10,93	<0,0001
Error	3912,50	42	93,15		
Total	17148,21	55			

Anexo E. Análisis de varianza de número de raíces

NUMERO RAICES

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NUMERO RAICES	48	0,62	0,51	15,19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	27,42	11	2,49	5,44	<0,0001
bioformulado	27,42	11	2,49	5,44	<0,0001
Error	16,50	36	0,46		
Total	43,92	47			

Anexo F. Análisis de varianza de longitud de raíz

LONGITUD DE LA RAIZ (cm)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONGITUD DE LA RAIZ (cm)	48	0,97	0,96	8,35

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	20,46	11	1,86	93,08	<0,0001
bioformulado	20,46	11	1,86	93,08	<0,0001
Error	0,72	36	0,02		
Total	21,18	47			

Anexo G. Análisis de varianza de diámetro de hipocótilo.

DIAMETRO DE TALLO (mm)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIAMETRO DE TALLO (mm)	48	0,61	0,49	8,78

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,63	11	0,06	5,10	0,0001
bioformulado	0,63	11	0,06	5,10	0,0001
Error	0,41	36	0,01		
Total	1,04	47			

Anexo H. Análisis de varianza de altura de hipocótilo

ALTURA DEL HIPOCOTILO (cm)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA DEL HIPOCOTILO (cm) ..	48	0,97	0,96	6,70

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	24,30	11	2,21	92,46	<0,0001
bioformulado	24,30	11	2,21	92,46	<0,0001
Error	0,86	36	0,02		
Total	25,16	47			

Anexo I. Análisis de varianza de peso fresco.

PESO FRESCO (mg)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PESO FRESCO (mg)	48	0,96	0,95	7,27

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6868,08	11	624,37	86,91	<0,0001
bioformulado	6868,08	11	624,37	86,91	<0,0001
Error	258,64	36	7,18		
Total	7126,72	47			

Anexo J. Volumen de raíz de plántulas en rizotrones.

volumen

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
volumen	15	0,34	0,07	18,36

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,01	4	2,0E-03	1,27	0,3436
tratamiento	0,01	4	2,0E-03	1,27	0,3436
Error	0,02	10	1,5E-03		
Total	0,02	14			

Anexo K. Longitud de raíz de plántulas en rizotrones.

longitud raiz

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
longitud raiz	15	0,73	0,62	7,46

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12,52	4	3,13	6,62	0,0072
tratamiento	12,52	4	3,13	6,62	0,0072
Error	4,73	10	0,47		
Total	17,25	14			

Anexo L. Área de pelos absorbentes en zona de crecimiento.

area

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
area	15	0,70	0,58	27,59

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	20,04	4	5,01	5,85	0,0108
tratamiento	20,04	4	5,01	5,85	0,0108
Error	8,56	10	0,86		
Total	28,60	14			

Anexo M. Longitud de pelos absorbentes en zona de crecimiento.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
longitud pelos mm	15	0,74	0,64	23,78

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,49	4	0,12	7,12	0,0056
tratamiento	0,49	4	0,12	7,12	0,0056
Error	0,17	10	0,02		
Total	0,67	14			

Anexo N. Longitud de pelos absorbentes en zona de ramificación.

longitud pelos mm

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
longitud pelos mm	15	0,81	0,74	18,92	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,69	4	0,17	10,80	0,0012
tratamiento	0,69	4	0,17	10,80	0,0012
Error	0,16	10	0,02		
Total	0,86	14			

Anexo Ñ. Área de pelos absorbentes en zona de ramificación

area mm2

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
area mm2	15	0,83	0,76	17,42	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	30,83	4	7,71	12,26	0,0007
tratamiento	30,83	4	7,71	12,26	0,0007
Error	6,29	10	0,63		
Total	37,11	14			

Anexo O. longitud de pelos absorbentes en zona Pilosa.

longitud pelos mm

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
longitud pelos mm	15	0,62	0,47	30,00	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,61	4	0,15	4,11	0,0319
tratamiento	0,61	4	0,15	4,11	0,0319
Error	0,37	10	0,04		
Total	0,99	14			

Anexo P. Área de pelos absorbentes en zona Pilosa.

area

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
area	15	0,77	0,67	22,77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	32,90	4	8,22	8,19	0,0034
tratamiento	32,90	4	8,22	8,19	0,0034
Error	10,04	10	1,00		
Total	42,93	14			

Anexo Q. Altura de plantas en vivero

altura

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
altura	24	0,59	0,48	8,81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	70,34	5	14,07	5,27	0,0037
tratamientos	70,34	5	14,07	5,27	0,0037
Error	48,03	18	2,67		
Total	118,37	23			

Anexo R. Diámetro de plantas en vivero.

diametro

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
diametro	24	0,58	0,46	16,90

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	18,63	5	3,73	4,97	0,0050
tratamientos	18,63	5	3,73	4,97	0,0050
Error	13,50	18	0,75		
Total	32,13	23			

Anexo S. Número de Hojas de plantas en vivero.

· hojas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
· hojas	24	0,57	0,45	14,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	50,21	5	10,04	4,73	0,0062
tratamientos	50,21	5	10,04	4,73	0,0062
Error	38,25	18	2,13		
Total	88,46	23			

Anexo T. Longitud de raíz de plantas en vivero.

longitud de eaiz

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
longitud de eaiz	24	0,64	0,54	12,32

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	529,99	5	106,00	6,33	0,0015
tratamientos	529,99	5	106,00	6,33	0,0015
Error	301,34	18	16,74		
Total	831,33	23			

Anexo U. Peso de la raíz de plantas en vivero

peso raiz

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
peso raiz	24	0,59	0,48	29,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	76,50	5	15,30	5,26	0,0038
tratamientos	76,50	5	15,30	5,26	0,0038
Error	52,34	18	2,91		
Total	128,84	23			

Anexo V. Peso total de plantas.

peso total

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
peso total	24	0,69	0,61	23,32

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	294,41	5	58,88	8,15	0,0004
tratamientos	294,41	5	58,88	8,15	0,0004
Error	130,09	18	7,23		
Total	424,50	23			