



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 del Proyecto de Investigación

EMPLEO POTENCIAL DE PGPR SOLUBILIZADORES DE MINERALES Y
PRODUCTORAS DE FITOHORMONAS EN EL CULTIVO DE ARROZ (*Oryza sativa* L.).

Autora:

Teresa De Jesús Manzo Campos

Director del Proyecto de Investigación

Hayron Fabricio Canchignia Martínez. *PhD.*

Mocache – Los Ríos – Ecuador

2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y SESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Teresa De Jesús Manzo Campos** 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.

.....

Teresa De Jesús Manzo Campos

C.I: 095362776-7

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, Hayron Fabricio Canchignia Martínez, PhD. de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la Srta. Manzo Campos Teresa De Jesús, realizó el proyecto de investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo titulado **“Empleo potencial de PGPR solubilizadores de minerales y productoras de fitohormonas en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.)** “ bajo mi dirección, habiendo cumplido con todas las disposiciones reglamentarias establecidas.

.....
Hayron Fabricio Canchignia Martínez PhD
Director de Proyecto de Investigación

REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

El suscrito **Dr. Hayron Fabricio Canchignia Martínez PhD**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, en calidad de Director del Proyecto de Investigación titulado **“Empleo potencial de PGPR solubilizadores de minerales y productoras de fitohormonas en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.)”**, perteneciente a la estudiante de la carrera de agronomía **Manzo Campos Teresa De Jesús**, certifica: el cumplimiento de los parámetros establecidos por el SENESCYT, y se evidencia el reporte de la herramienta de prevención de coincidencia y/o plagio académico (URKUND) con un porcentaje de coincidencia del 5%.

URKUND	
Dokument	TESIS MANZO URKUND 22-11-22.docx (D150589892)
Inskickat	2022-11-22 09:55 (-05:00)
Inskickad av	hcanchignia@uteq.edu.ec
Mottagare	hcanchignia.uteq@analysis.orkund.com
Meddelande	TESIS MANZO Visa hela meddelandet 5% av det här c:a 31 sidor stora dokumentet består av text som också förekommer i 7 st källor.



HAYRON FABRICIO
CANCHIGNIA
MARTINEZ

Hayron Fabricio Canchignia Martínez PhD.

Director de Proyecto de Investigación



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

Proyecto de Investigación

Título:

Empleo potencial de PGPR solubilizadores de minerales y productoras de fitohormonas en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.).

Presentado al Consejo Académico como requisito previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma

Aprobado por:

Ing. Ramiro Remigio Gaibor Fernández MSc.

Presidente del Tribunal

Ing. Paula Marisol Plaza Zambrano PhD.

Miembro del Tribunal

Ing. Italo Martin Orrala Ycaza MSc.

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, institución digna como estudiante haber culminado cada uno de las etapas académicas y forjar mis conocimientos en el transcurso de mi preparación para la obtención del título de ingeniera Agrónoma.

Este logro se lo agradezco a Dios por brindarme sabiduría y fortaleza en mi vida, de tal manera ayudándome para cumplir este anhelado objetivo y muchos más en mi vida.

A mi Director de tesis, Dr. Hayron Canchignia Martínez, por cada apoyo brindado en el transcurso de mi investigación por la enseñanza y conocimientos compartidos.

A mi novio Ing. Flavio Cesar Valarezo por brindarme su amor y amistad en el transcurso de mi carrera agradezco infinitamente por el apoyo en el transcurso de mi investigación.

A mis cuñadas Evelyn Cedeño, Belén Montero y cuñado Yoxy Saa por aconsejarme en mi vida y ayudarme siempre que lo he necesitado agradezco por ser parte de mi familia.

A cada uno de mis familiares a mi Padrino Jorge Conforme a mis primas (os) Evelyn, Milanyela, Mildred, Steven y Jordy por brindarme mucho respeto y humildad compartiendo conmigo su experiencia, conocimientos y sobre todo mucho amor.

Ing. Cristhian Macias, Ing. Dayanara Tapia, Ing. Luis Vera, Msc. Antonio Mendoza, Msc. Ángel Cedeño, Dayana Delgado, Ana María Miquinga por su sincera amistad y confianza brindada en el transcurso de mi proyecto de investigación. A mis amigos durante la carrera, Edinson, Alex, Melissa, Domenica y Mariela.

DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón mi proyecto de investigación a mi abuelo Carlos Campos Rivadeneira† y a mis padres Alcides Manzo y Rosario Campos por haber confiado en mí, por guiarme en cada momento de mi vida por constantemente animarme para alcanzar mis anhelos.

A mis hermanos (as) Jonathan, Yorlenny, German, Karla por el apoyo condicional y amistad de hermanos durante cada etapa de mi formación académica.

A mis sobrinos (as) Sarelys, Aylin, Eydan, Samir y Antonella por ser fundamental en mi vida y gran fuente de inspiración.

Teresa De Jesús Manzo Campos

RESUMEN

El empleo de nuevas cepas, con propiedades halófilas en efecto supresor ante las afecciones que presentan el cultivo de arroz en suelos férricos, con objeto de facilitar mayor absorción y aprovechamiento del mineral. El objetivo de la investigación es evaluar el potencial de PGPR solubilizadores de minerales y productoras de fitohormonas en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.). Las cepas *Serratia Marescens* (PM 3-8), *Acinetobacter calcoaceticus* (BMR 2-12), *Pseudomonas veronii* (R4), *Pseudomonas putida* (PB 3-6), *Acinetobacter sp* (BMR 2-2), *Enterobacter asburiae* (PM 3-14), *Klebsiella variicola* (BO 3-4), *Enterobacter asburiae* (BA 4-19), *Pseudomonas putida* (BMR 2-4), *Pseudomonas protegens* (CHA0) se sometieron al estudio de solubilización de potasio y fósforo; producción de exopolisacáridos, ureasa y AIA; tolerancia a concentraciones de 500, 1000 y 1500 ppm de hierro; para luego seleccionar y emplear cinco cepas en plántulas de arroz cultivadas en suelo férrico. Como resultado, la cepa PB 3-6 productora de mayor cantidad de AIA (28.90 ug/ml^{-1}), mientras que BMR 2-12 produce ureasa (43.24 %) y solubiliza fósforo (25.93 %), PM 3-8 promueve la solubilización fósforo (89.99 %) y desarrolla mayor exopolisacáridos, al igual que BO 3-8. El aumento de cargas UFC/uL y la absorción de hierro generó cinco cepas con potencial sideróforos, en donde BMR 2-12, PM 3-8, BA 4-19, BMR 2-2 y BMR 2-4 absorbió el mineral e inducir el aumento *abs* a las 96 h. El efecto bacteriano en plántulas de arroz, favoreció la absorción del hierro Fe^{+3} a Fe^{+2} , sin generar efectos tóxicos, estimulando el sistema radicular.

Palabra clave: Arroz, Bio-solubilización, PGPRs, prueba bioquímica.

ABSTRACT

The use of new strains, with halophilic properties that have a suppressive effect against the affections that rice cultivation presents in ferric soils, in order to facilitate greater absorption and use of the mineral. The objective of the research is to evaluate the potential of PGPR solubilizers of minerals and producers of phytohormones in the cultivation of rice (*Oryza sativa* L.). The strains *Serratia Marescens* (PM 3-8), *Acinetobacter calcoaceticus* (BMR 2-12), *Pseudomonas veroni* (R4), *Pseudomonas putida* (PB 3-6), *Acinetobacter sp* (BMR 2-2), *Enterobacter asburiae* (PM 3-14), *Klebsiella variicola* (BO 3-4), *Enterobacter asburiae* (BA 4-19), *Pseudomonas putida* (BMR 2-4), *Pseudomonas protegens* (CHA0) underwent potassium and phosphorus solubilization study; production of exopolysaccharides, urease and IAA; tolerance to concentrations of 500, 1000 and 1500 ppm of iron; to then select and use five strains in rice seedlings grown in ferric soil. As a result, the PB 3-6 strain produced the highest amount of IAA (28.90 ug/ml-1), while BMR 2-12 produced urease (43.24%) and solubilized phosphorus (25.93%), PM 3-8 promoted the solubilization of phosphorus (89.99%) and develops greater exopolysaccharides, like BO 3-8. The increase in CFU/uL loads and iron absorption eliminated five strains with potential siderophores, where BMR 2-12, PM 3-8, BA 4-19, BMR 2-2 and BMR 2-4 absorbed the mineral and induce the increase in abs at 96 h. The bacterial effect on rice seedlings favors the absorption of iron Fe⁺³ to Fe⁺², without generating toxic effects, stimulating the root system.

Keywords: Rice, Bio-solubilization, PGPRs, biochemical test.

Tabla de Contenido

PORTADA.....	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y SESIÓN DE DERECHOS.....	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	iii
REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO	iv
CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	v
Agradecimiento.....	vi
Dedicatoria	vii
Resumen.....	viii
Abstract	ix
Tabla de Contenido	x
Código Dublín.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO. I.....	2
Contextualización De La Investigación.....	2
1.1 Planteamiento del problema.....	2
Diagnóstico.....	2
Formulación Del Problema.....	2
Sistematización del problema.....	3
1.2 Justificación.....	4
1.3 Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo general	5
1.3.2. Objetivos específicos.....	5

CAPÍTULO II	6
Fundamentación Teórica de la Investigación.....	6
2.1. Marco Conceptual.....	7
2.1.1 Bio-solubilización	7
2.1.2 PGPRs	7
2.1.3 Arroz.....	7
2.1.4 Prueba bioquímicas	7
2.2 Marco Referencial.....	8
2.2.1 Tipos de Bacterias	8
2.2.1.1 Bacterias aplicadas en la agricultura	8
2.2.1.2 Bacterias fitopatógenas.....	8
2.2.1.3 Bacterias benéficas	8
2.2.1.4 Bacterias PGPRs.....	8
2.2.1.5 Interacciones de PGPRs – raíces	9
2.2.1.6 Interacción bacterias PGPRs-planta	9
2.2.2 Producción de sustancias complejas de bacterias PGPRs.....	9
2.2.2.1 Ácido indolacético.....	9
2.2.2.2 Exopolisacáridos	9
2.2.2.3 Producción de ureasa.....	10
2.2.2.4 Solubilización de potasio.....	10
2.2.3. Necesidades nutricionales del cultivo.....	10
2.2.3.1 Hierro.....	10
2.2.3.2 Ciclo del Fe en el suelo	10
2.2.3.3 Suelo con altos excesivo contenido de Fe	11
2.2.3.4 Factores que afectan a la resistencia del hierro en el suelo.....	11
2.2.3.5 Deficiencia de hierro en la planta.....	11

2.2.3.6	Toxicidad del hierro en la planta.....	11
2.2.3.7	Toxicidad por Hierro (Fe)	11
2.2.3.8	Exceso del hierro en el cultivo de arroz	12
2.2.3.9	Influencia del hierro en plantas de arroz	12
2.2.3.10	Fósforo.....	12
2.2.3.11	Deficiencia de fósforo en plantas	13
2.2.3.12	Sintomatología causada por deficiencias de fósforo	13
2.2.3.13	Interacción de fósforo – hierro	13
2.2.3.14	Interacciones con la superficie celular	13
2.2.3.15	Interacciones intracelulares	14
2.2.3.16	Interacciones planta – patógeno en mecanismo general de defensa	14
CAPÍTULO III.		15
Metodología De La Investigación.....		15
3.1	Localización de la Investigación.....	16
3.2	Tipo de investigación.....	16
3.3	Método de investigación.....	16
3.4	Fuentes de recopilación de información.....	17
3.4.1	Fuente primaria.....	17
3.4.2	Fuente secundaria.....	17
3.5	Diseño de la investigación.....	18
3.5.1	Tratamientos.....	18
3.5.2	Diseño experimental – in vitro	19
3.5.2.1	Diseño cualitativo para la producción de exopolisacáridos.....	19
3.5.2.2.	Diseño para el ácido Indolacético y ureasa de diferentes cepas PGPRs	19
3.5.2.3	Diseño para la solubilización de fósforo y potasio de diferentes cepas PGPRs....	19

3.5.2.4	Diseño para la evaluación de tolerancia de las PGPRs bajo el empleo de diversas concentraciones de hierro.....	20
3.5.2.5	Diseño para la evaluación de tolerancia bajo el empleo de diversas concentraciones de hierro.....	21
3.5.3	Diseño en fase in vivo.....	25
3.5.3.1	Diseño para la aplicación de las PGPRs en las plántulas de arroz in-vivo.....	25
3.5.3.2	Características del área de investigación.....	25
3.6	Instrumentos de investigación.....	28
3.6.1	Manejo del experimento.....	28
3.6.1.1	Preparación de pre-inóculo en medio king b.....	28
3.6.1.2	Prueba de compatibilidad.....	29
3.6.1.3	Pruebas bioquímicas.....	29
3.6.1.4	Producción de exopolisacáridos.....	29
3.6.1.5	Producción de ácido indolacético.....	29
3.6.1.6	Curva patrón de ácido Indolacético de bacterias PGPRs.....	30
3.6.1.7	Producción de ureasa.....	31
3.6.1.8	Solubilización de potasio.....	31
3.6.1.9	Solubilización de fósforo.....	32
3.6.1.10	Evaluación de las cepas PGPRs sometidas a diversas concentraciones de hierro	33
3.6.1.11	Selección de las cepas PGPRs con potencial tolerante a diversas concentraciones de hierro.....	33
3.6.1.12	Selección de cepas PGPRs con alto potencial en la producción de fitohormonas, solubilizadores de minerales.....	33
3.6.1.13	Empleo de diferentes concentraciones de hierro al suelo propio de las plántulas de arroz e inoculación del consorcio bacteriano.....	33
3.6.2	Variables a evaluar.....	34
3.6.2.1	Altura de planta (cm).....	34
3.6.2.3	Número de hojas (n°).....	34

3.6.2.4	Longitud radicular (cm).....	34
3.6.2.5	Peso fresco del sistema radicular (g).....	34
3.6.2.6	Peso fresco del tallo (g).....	35
3.6.2.7	Peso seco del sistema radicular y del tallo (g).....	35
3.7	Tratamiento de los datos.....	35
3.7.1	Materiales y equipos.....	35
3.8.	Recursos Humanos y materiales.....	35
3.8.2.	Materiales de laboratorio.....	36
3.8.3.	Equipos de laboratorio.....	36
3.8.4.	Reactivos.....	36
3.8.5.	Materiales de oficina.....	37
CAPÍTULO IV.....		37
Resultado y Discusión.....		37
4.1	Resultados.....	39
4.1.1	Producción de exopolisacáridos.....	39
4.1.2	Bacterias solubilizadoras de potasio.....	40
4.1.3	Bacterias solubilizadoras de fósforo.....	41
4.1.4	Bacterias productoras de ureasa.....	42
4.1.5	Cinética de crecimiento y densidad óptica de las cepas PGPRs sometidas a diferentes concentraciones de hierro.....	44
4.1.5.1	Efecto de cepas PGPRs sometidas a 500 ppm de hierro.....	44
4.1.5.2	Efecto de cepas PGPRs sometidas a 1000 ppm de hierro.....	45
4.1.6	Efecto de cepas PGPRs sometidas a 1500 ppm de hierro.....	47
4.1.7	Selección de las bacterias con alto potencial biosolubilizadoras de hierro.....	48
4.1.7.1	Niveles de absorbancia bajo concentraciones de hierro de la cepa BMR 2-12.....	48
4.1.7.2	Niveles de absorbancia bajo concentraciones de hierro de la cepa PM 3-8.....	49

4.1.7.3	Niveles de absorbancia bajo concentraciones de hierro de la cepa BA 4-19	50
4.1.8	Niveles de absorbancia bajo concentraciones de hierro de la cepa BMR 2-2.....	51
4.1.8.1	Niveles de absorbancia bajo concentraciones de hierro de la cepa BMR 2-4.....	52
4.1.8.2	Producción de ácido indol acético de bacterias PGPRs	53
4.1.8.3	Altura de la planta y longitud radicular.....	55
4.1.8.4	Número de hojas.....	55
4.1.8.5	Peso fresco y seco del sistema radicular	56
4.1.8.6	Peso fresco y seco del tallo.....	57
4.2	Discusión	59
CAPÍTULO V.		62
Conclusiones y Recomendaciones.....		62
5.1	Conclusiones.....	66
5.2	Recomendaciones.....	67
CAPÍTULO VI.....		65
Bibliografía.....		65
6.1	Bibliografía.....	69
CAPÍTULO VII.		75
ANEXO.....		75
7.1	Anexos.....	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones agroclimáticas del área de estudio.....	16
Tabla 2. Tratamientos empleados.....	18
Tabla 3. Esquema del Análisis de Varianza para el ácido Indolacético y ureasa.....	19
Tabla 4. Esquema del análisis de varianza a la solubilización de fósforo y potasio.....	20
Tabla 5. Esquema del análisis de varianza a la evaluación de tolerancia de las PGPRs bajo el empleo de diversas concentraciones de hierro.....	20
Tabla 6. Características de las unidades evaluadas a diferentes concentraciones de hierro.....	21
Tabla 7. Esquema del Análisis de Varianza a la tolerancia de las cinco mejores cepas tolerantes a hierro.....	22
Tabla 8. Características de las unidades evaluadas;2000 ppm.....	22
Tabla 9. Características de las unidades evaluadas;2500 ppm.....	23
Tabla 10. Características de las unidades evaluadas;3000 ppm.....	24
Tabla 11. Esquema del Análisis de Varianza de la inoculación de las bacterias PGPR en plántulas de arroz in vivo.....	25
Tabla 12. Características de las unidades experimentales.....	25
Tabla 13. Características de las unidades evaluadas.....	26
Tabla 14. Cinética de crecimiento de cepas PGPRs sometidas a concentraciones 500 ppm de hierro a las 24, 48 y 72 h.....	45
Tabla 15. Cinética de crecimiento de cepas PGPRs sometidas a concentraciones 1000 ppm de hierro a las 24, 48 y 72 h.....	46
Tabla 16. Cinética de crecimiento de cepas PGPRs sometidas a concentraciones 1000 ppm de hierro a las 24, 48 y 72 h.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Curva lineal de concentración de AIA (Blanco: Agua).....	30
Figura 2. Muestras del contenido curva patrón del ácido indol acético.	30
Figura 3. Formación de exopolisacáridos generadas por cepas PGPRs.....	39
Figura 4. Solubilización de Potasio de diez cepas PGPRs a las 24, 48 y 72 h.....	40
Figura 5. Solubilización de Fósforo de diez cepas PGPRs a las 24, 48 y 72 h.	42
Figura 6. Producción de Ureasa de diez cepas PGPRs a las 24, 48 y 72 h	43
Figura 7. Evaluación de la cepa BMR 2-12 a diferentes concentraciones de 2000 ppm, 2500 ppm y 3000 ppm de hierro	48
Figura 8. Evaluación de la cepa PM 3-8 a diferentes concentraciones 2000 ppm, 2500 ppm y 3000 ppm de hierro	49
Figura 9. Evaluación de la cepa BA 4-19 a diferentes concentraciones 2000 ppm, 2500 ppm y 3000 ppm de hierro	50
Figura 10. Evaluación de la cepa BMR 2-2 a diferentes concentraciones de 2000 ppm, 2500 ppm y 3000 ppm de hierro.....	51
Figura 11. Evaluación de la cepa BMR 2-4 a diferentes concentraciones de 2000 ppm, 2500 ppm y 3000 ppm de hierro	52
Figura 12. Producción de ácido indol acético de las cepas PGPRs durante las 24, 48 y 72 h.....	53
Figura 13. Ensayo de producción de ácido indolacético de cepas durante las 24, 48 y 72 h.....	54
Figura 14. Altura de la planta y longitud radicular	55
Figura 15. Número de hojas	56

Figura 16. Peso fresco y seco del sistema radicular	57
Figura 17. Peso fresco y seco del tallo	58

ÍNDICE DE ANEXO

Anexo A. Prueba de compatibilidad entre bacterias.	78
Anexo B. Prueba bioquímica de la producción de potasio por parte de las bacterias.....	79
Anexo C. Producción de ácido indolacético.	80
Anexo D. Siembra y conteo de UFC.....	81
Anexo E. Solubilización de potasio; 24 h.	82
Anexo F. Solubilización de potasio; 48 h.	82
Anexo G. Solubilización de potasio; 72 h.....	82
Anexo H. Solubilización de fosforo; 24 h.....	83
Anexo I. Solubilización de fosforo; 48 h.	83
Anexo J. Solubilización de fosforo; 72 h.....	83
Anexo K. Producción de ureasa; 24 h.	84
Anexo L. Producción de ureasa; 48 h.	84
Anexo M. Producción de ureasa; 72 h.	84
Anexo N. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-8, 24 h.....	85
Anexo O. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-8, 48 h.....	85
Anexo P. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-8, 72 h.....	85
Anexo Q. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 24 h.....	86
Anexo R. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 48 h.....	86
Anexo S. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 72 h.....	86
Anexo T. Cinética de crecimiento (UFC); R4, 24 h.....	87

Anexo U. Cinética de crecimiento (UFC); R4, 48 h	87
Anexo V. Cinética de crecimiento (UFC); R4, 72 h	87
Anexo W. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-6, 24 h.....	88
Anexo X. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-6, 48 h.....	88
Anexo Y. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-6, 72 h.....	88
Anexo Z. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 24 h.....	89
Anexo AA. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 48 h.....	89
Anexo BB. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 72 h	89
Anexo CC. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-14, 24 h.....	90
Anexo DD. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-14, 48 h.....	90
Anexo EE. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-14, 72 h	90
Anexo FF. Cinética de crecimiento (UFC); BO 3-4, 24 h.....	91
Anexo GG. Cinética de crecimiento (UFC); BO 3-4, 48 h.....	91
Anexo HH. Cinética de crecimiento (UFC); BO 3-4, 72 h.....	91
Anexo II. Cinética de crecimiento (UFC); BA 4-19, 24 h.....	92
Anexo JJ. Cinética de crecimiento (UFC); BA 4-19, 48 h.....	92
Anexo KK. Cinética de crecimiento (UFC); BA 4-19, 72 h.....	92
Anexo LL. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-4, 24 h	93
Anexo MM. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-4, 48 h.....	93
Anexo NN. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-4, 72 h.....	93
Anexo OO. Cinética de crecimiento (UFC); CHA0, 24 h	94

Anexo PP. Cinética de crecimiento (UFC); CHA0, 48 h	94
Anexo QQ. Cinética de crecimiento (UFC); CHA0, 72. h	94
Anexo RR. Niveles de absorbancia; BMR 2-12. 2000. ppm.....	95
Anexo SS. Niveles de absorbancia; BMR 2-12. 2500. ppm	95
Anexo TT. Niveles de absorbancia; BMR 2-12. 3000. ppm	95
Anexo UU. Niveles de absorbancia; PM 3-8. 2000. ppm.....	96
Anexo VV. Niveles de absorbancia; PM 3-8. 2500. ppm.....	96
Anexo WW. Niveles de absorbancia; PM 3-8. 3000. ppm.....	96
Anexo XX. Niveles de absorbancia; BA 4-19. 2000. ppm	97
Anexo YY. Niveles de absorbancia; BA 4-19. 250.0 ppm	97
Anexo ZZ. Niveles de absorbancia; BA 4-19. 3000. ppm.....	97
Anexo AAA. Niveles de absorbancia; BMR 2-2. 2000. ppm.....	98
Anexo BBB. Niveles de absorbancia; BMR 2-2. 2500. ppm.....	98
Anexo CCC. Niveles de absorbancia; BMR 2-2. 3000. ppm.....	98
Anexo DDD. Niveles de absorbancia; BMR 2-4. 2000. ppm.....	99
Anexo EEE. Niveles de absorbancia; BMR 2-4. 2500. ppm.....	99
Anexo FFF. Niveles de absorbancia; BMR 2-4. 3000. ppm	99
Anexo GGG. Producción de AIA; 24. h.....	100
Anexo HHH. Producción de AIA; 48. h.....	100
Anexo III. Producción de AIA; 72 h	100
Anexo JJJ. Altura de la planta.....	101

Anexo KKK. Número de hojas.....	101
Anexo LLL. Longitud radicular	101
Anexo MMM. Peso fresco de la raíz	102
Anexo NNN. Peso fresco del tallo	102
Anexo OOO. Peso seco de la raíz.....	102
Anexo PPP. Peso seco del tallo	103

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	“Empleo potencial de PGPR solubilizadores de minerales y productoras de fitohormonas en el cultivo de arroz (<i>Oryza sativa</i> L.).”
Autor:	Teresa De Jesús Manzo Campos
Palabras clave:	Bio-solubilización, PGPRs, arroz, pruebas bioquímicas.
Fecha de publicación:	
Editorial:	
Resumen:	<p>El empleo de nuevas cepas, con propiedades halófilas en efecto supresor ante las afecciones que presentan el cultivo de arroz en suelos férricos, con objeto de facilitar mayor absorción y aprovechamiento del mineral. El objetivo de la investigación es evaluar el potencial de PGPR solubilizadores de minerales y productoras de fitohormonas en el cultivo de arroz (<i>Oryza sativa</i> L.). Las cepas <i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Pseudoma veronii</i> (R4), <i>Pseudoma putida</i> (PB 3-6), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (PM 3-14), <i>Klebsiella variicola</i> (BO 3-4), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4), <i>Pseudomona protegens</i> (CHA0) se sometieron al estudio de solubilización (...)</p> <p>Abstract The use of new strains, with halophilic properties that have a suppressive effect against the affections that rice cultivation presents in ferric soils, in order to facilitate greater absorption and use of the mineral. The objective of the research is to evaluate the potential of PGPR solubilizers of minerals and producers of phytohormones in the cultivation of rice (<i>Oryza sativa</i> L.). The strains <i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Pseudoma veroni</i> (R4), <i>Pseudoma putida</i> (PB 3-6), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (PM 3- 14), <i>Klebsiella variicola</i> (BO 3-4), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4), <i>Pseudomona protegens</i> (CHA0) (...)</p>
Descripción:	132 Hojas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM 6162
URL:	

INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa L.*) es el cereal más cultivado en el mundo cultivado en el mundo, en América Latina es la tercera parte de caloría que se consume en cada familia, este cultivo requiere de variedades con características agronómicas favorables y de una gran tolerancia a plagas y enfermedades en lo que respecta su adaptabilidad a condiciones agroclimáticas y sus altas demandas (1). En el cultivo de arroz la presencia de este metal provoca desbalances nutricionales, tal es el punto que esta especie presenta en sus primeras fases colores anormales en sus hojas. Un suelo por falta de oxígeno induce el anegamiento, ya que altas concentraciones de este metal provocan procesos fisiológicos dentro de la planta expresándolo como necrosis (1).

Los suelos arroceros presentan limitantes en la producción de los cultivos debido a la toxicidad que provoca el hierro (Fe), generando efectos que impiden el desarrollo y producción de las plantas de arroz. En muchos casos la presencia de este metal es inducido por el mal manejo de los productores, dejando como consecuencia la degradación de los suelos con el uso excesivo de fertilizantes, agroquímicos, quemas inapropiadas de residuos vegetales y sobre todo el empleo continuo de maquinarias pesadas, provocando la pérdida de nutrientes, materia orgánica, microbiota e inclusive alteraciones en la textura del suelo (1).

La siguiente investigación busca obtener resultados sobre el la bio-solubilización de nutrientes, mayor absorción de nutrientes esenciales para aumentar la productividad de los cultivos y generar mejor sostenibilidad alimentaria, es por esta razón que este trabajo de investigación tiene por objetivo evaluar el potencial de PGPR solubilizadores de minerales y productoras de fitohormonas en el cultivo de arroz (*Oryza sativa L.*). El siguiente trabajo se basa en el estudio de diez cepas de rizobacterias nativas de cacaoteras del banco de germoplasma del laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ) cada microorganismo tiene estudios previos de pruebas de compatibilidad, pruebas bioquímicas, producción de AIA, ureasa, solubilización de nutrientes, características agronómicas.

CAPITULO I

CONCEPTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

El problema por toxicidad de hierro en el suelo afecta de manera lenta al cultivo esto puede ocurrir en diferentes etapas del ciclo del cultivo, en los arrozales de tierras bajas o incluso en todas las partes del mundo se manifiesta este tipo de problema de toxicidad del cultivo. La absorción y la acumulación excesiva del hierro en los tejidos vegetales conducen a la producción de compuestos tóxicos, incluso a su vez se puede causar la destrucción de la clorofila y sobre todo el deterioro de procesos fisiológicos, lo cual la planta lo manifiesta mediante la coloración parda o bronceada en las hojas.

La acumulación de hierro en lo que es la rizosfera se reduce en la salud de las raíces tanto primarias como secundarias esto ocasionándole una disminución de nutrientes que son esenciales para el desarrollo de las plántulas, esto asociado con una disminución sustancial en la producción de cultivos. En los suelos que se encuentran sumergidos con abundante agua es donde se encuentran una mayor concentración de hierro y las plántulas absorben en cantidades elevadas.

El fósforo interviene en muchas de las reacciones que utilizan energía dentro de la célula ya que forma parte integral de las moléculas que acumulan energía como el adenosin trifosfato (ATP), la producción de raíces al inicio de los ciclos vegetativos este elemento es vital en las primeras fases de desarrollo del cultivo, el fósforo repercute en el alargamiento del tallo de las hojas ayudando a producir, las plantas deficientes de fósforo crecen de manera lenta y retardan la madurez, en un pH inferior a 5.8 en condiciones aeróbicas y con un pH inferior a 6.5 en condiciones anaeróbicas las prácticas de control apropiadas incluyen el encalado del suelo.

Diagnóstico del problema

La acumulación de metales en el suelo se ve directamente influenciados tejidos de la planta de arroz y conducen a la producción de compuestos tóxicos, incluso a su vez se puede causar la destrucción de la clorofila y sobre todo el deterioro de procesos fisiológicos, lo cual la planta lo manifiesta mediante la coloración parda o bronceada en las hojas. El cultivo de

arroz generalmente se ve afectado por la poca absorción y las altas concentraciones de hierro, en lo cual genera toxicidades en diferentes áreas de la planta, con efecto a la disminución de la productividad del cultivar. La falta de estudio sobre el mejoramiento de los suelos impide al cultivo promover la estabilidad en el uso adecuado de los nutrimentos.

Formulación del problema

- ¿Podrá el fosforo y hierro biomineralizarse tan solo usando bacterias PGPRs productoras de sideróforos, exopolisacáridos y ácido indolacético?

Sistematización del problema

- ¿Cómo se determinará la producción de exopolisacáridos, ácido Indolacético, fósforo, potasio y producción de ureasa de bacterias PGPRs?
- ¿Es posible evaluar la tolerancia de las PGPRs a concentraciones de hierro in vitro?
- ¿De qué manera se lograría verificar y comprobar el efecto de bacterias PGPRs aplicadas en plántulas de arroz cultivadas en sustratos que contienen altas concentraciones de hierro?

1.2 Justificación

El proyecto de investigación propone la aplicación de las bacterias PGPR como solubilizadores de metales en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) la extensa contaminación de suelos, es el dilema, las bacterias erradican los metales como el hierro que se encuentra disponible en altas concentraciones mediante la producción de sideróforos, exopolisacáridos y ac. Indolacético. En este contexto la utilización de rizobacterias en el campo agrícola ayuda a incrementar la productividad y desarrollo de las plantas, siendo viables económicamente para los agricultores arroceros aportando con la seguridad alimentaria del país.

El empleo de cepas bacterianas promueve la producción de sideróforos, exopolisacáridos, ac. Indolacético y ureasa; además ayuda a la solubilización de nutrientes tales como fósforo e hierro. Esta serie de beneficios complejos que proporcionan las bacterias PGPRs inducen a la estimulación constante, la introducción de rizobacterias reduce el impacto que tiene el uso de productos químicos, ya que poseen capacidad antagonista hacia un amplio rango de patógenos entre ellos por la producción de metabolitos secundarios además de la producción de fitohormonas que favorecen el desarrollo de las plantas.

La aplicación de bacterias PGPRs en suelos agrícolas es un componente clave de los ecosistemas agrícolas que no solo juega un papel importante en los procesos básicos del suelo, en lo que ofrece al incremento de la eficiencia de asimilación de nutrientes y sustancias estimulantes. Esta investigación sirvió como guía al sector arrocero para potenciar el conocimiento de microorganismos benéficos.

1.3 Objetivos

1.3.1 *Objetivo general*

- Evaluar el potencial de PGPR solubilizadores de minerales y productoras de fitohormonas en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.).

1.3.2. *Objetivos específicos*

- Determinar la producción de exopolisacáridos, ácido indolacético, fósforo, potasio y la producción de ureasa en bacterias PGPRs.
- Evaluar la tolerancia de las PGPRs a concentraciones de hierro in vitro.
- Verificar el desarrollo morfológico, fisiológico de plántulas de arroz inoculadas con bacterias PGPRs en diferentes tipos de suelos.

CAPITULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco Conceptual

2.1.1 *Bio-solubilización*

La bio-solubilidad significa solubilidad en un sistema biológico. La bio-solubilidad puede diferir significativamente de la solubilidad en agua y varía según los sistemas biológicos (71).

2.1.2 *PGPRs*

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPRs) son bacterias que se encuentran en la rizósfera del suelo, en donde ayudan en el crecimiento vegetal por sus amplios beneficios que aporta como la producción de metabolitos secundarios, expresión ISR, exopolisacáridos, fomentan las vías señalizadores (72).

2.1.3 *Arroz*

El arroz es una gramínea, en algunos países del continente asiático la producción mundial de los cereales, el arroz ya supera al trigo (73).

2.1.4 *Prueba bioquímicas*

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias, son técnicas rápidas que evalúan la presencia de una enzima preformada, determinan la sensibilidad de un microorganismo a una sustancia (74).

2.2 Marco Referencial

2.2.1 Tipos de Bacterias

2.2.1.1 Bacterias aplicadas en la agricultura

Se ha retomado el interés de utilizar rizobacterias en la producción de cultivos, siendo aplicadas en semillas, raíces, poseen la capacidad de colonizar las raíces de las plantas y estimular el crecimiento, con efecto de aumentar la productividad de las cosechas. Los mecanismos que promueven las bacterias facilitan la disponibilidad de nutrientes de una manera directa e indirecta (9).

2.2.1.2 Bacterias fitopatógenas

Constituyen el segundo grupo como fitopatógeno, causando grandes pérdidas económicas al agricultor. Los géneros de mayor importancia asociados a enfermedades son *Clavibacter*, *Agrobacterium*, *Streptomyces*, *Xylilla*, *Erwinia*, *Pectobacterium*, *Pseudomonas* y *Xanthomonas* (10).

2.2.1.3 Bacterias benéficas

Las bacterias fitobenéficas se caracterizan por mejorar las interacciones entre microorganismos-planta, en donde se encuentran naturalmente en el suelo y ayudan a mejorar la producción y la salud de los cultivos (21).

2.2.1.4 Bacterias PGPRs

Las bacterias PGPRs ejercen un efecto positivo en las especies vegetales, ayudando a colonización radicular y tejidos internos, además, provee de reguladores de crecimiento vegetal como: auxinas, citoquininas, etileno y giberelinas. La presencia de estos organismos microscópico potencializa a la asimilación de nutrientes y reducción de enfermedades (3).

2.2.1.5 Interacciones de PGPRs – raíces

La población microbiana es extensa en el suelo el hábitat para la población de los microorganismos, la interacción revelada en la rizósfera facilita el aumento de la masa radicular, en donde los exudados orgánicos generados por las raíces atraen comunidades bacterias benéficas, en este mutualismo benéfico mejora significativamente al desarrollo vegetal (22).

2.2.1.6 Interacción bacterias PGPRs-planta

Las rizobacterias favorecen el crecimiento de las plantas a través de diferentes mecanismos metabólicos y la síntesis de sustancias complejas, destacándose la fijación de nitrógeno, fitohormonas y extensión de la masa radicular, en el cual genera mayor presencia de pelos absorbente mejorando la absorción de agua y nutrientes (19).

2.2.2 *Producción de sustancias complejas de bacterias PGPRs*

2.2.2.1 Ácido indolacético

El AIA es una de las auxinas esenciales en la estimulación de la división de células vegetales y formación de las raíces, mayores floración, regenerar tubérculos y la proliferación de callos de las plantas (11).

2.2.2.2 Exopolisacáridos

Los exopolisacáridos (EPS) son polímeros naturales de alto peso molecular que son sintetizados en la superficie externa en las células bacterianas. Principalmente, los EPS están compuestos por polisacáridos y proteínas, tienen una aplicación directa en la biotecnología, por su capacidad biodegradable y afinidad (13).

2.2.2.3 Producción de ureasa

Es una enzima encargada de catalizar la hidrólisis de la urea, el ácido carbónico en bicarbonato produce una solución tampón; el amoníaco y el bicarbonato pueden unirse y disociarse de los iones de hidrógeno en el cual puede tener un pH neutral (31).

2.2.2.4 Solubilización de potasio

Este elemento es muy bajo en el suelo, el potasio es asequible en los suelos, mientras que en formas de rocas que son insolubles y silicatos (32). Este sólido es especial cuando tienen contacto directo con otros minerales, las bacterias son un componente que ayudan en la movilización (33).

2.2.3. Necesidades nutricionales del cultivo

2.2.3.1 Hierro

El hierro es el cuarto metal más abundante en los suelos, con un peso molecular de 55,845, cumple diversas funciones en procesos biológicos fundamentales como: transporte de oxígeno, síntesis de ADN, fijación de nitrógeno, respiración y fotosíntesis. A pesar de su abundancia en la naturaleza, en condiciones fisiológicas (presencia de oxígeno y pH neutro) este elemento es escasamente disponible debido a la rápida oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} y la subsecuente formación de hidróxidos insolubles (15).

2.2.3.2 Ciclo del Fe en el suelo

Los diferentes grados de solubilidad de hidróxidos de Fe en el suelo el óxido de Fe amorfo puede ser el más soluble mientras la goethita sería la de menor solubilidad; la solubilidad desciende 1000 veces, a la vez que aumenta el pH, oprimiendo la concentración de Fe soluble. La concentración de Fe para este intervalo de pH es de 10-20 M aproximadamente, cantidad insuficiente para el óptimo crecimiento vegetal, provocando deficiencias de Fe en plantas cultivadas sobre estos suelos (7).

2.2.3.3 Suelo con alto contenido de Fe

Los suelos con alto contenido de hierro ayudan en la contribución de la deficiencia de Fe en el crecimiento de los cultivos en estos suelos. Cuando los suelos se inundan tiene lugar la reducción del Fe^{3+} a Fe^{2+} acompañada por un acrecimiento en solubilidad de Fe (17).

2.2.3.4 Factores que afectan a la resistencia del hierro en el suelo

Entre los factores que afectan la resistencia se encuentra el estado nutricional de la planta, la deficiencia de Mg, P, K y Mn disminuyen, a mayor susceptibilidad a la toxicidad por altas concentraciones de Fe y condiciones de inundación ricos en materia orgánica (6).

2.2.3.5 Deficiencia de hierro en la planta

La deficiencia de hierro provoca estrés abiótico que se caracteriza principalmente por el amarillento de las hojas jóvenes, esto se lo conoce como clorosis férrica y en casos extremos la hoja puede obtener un color blanco, pueden aparecer manchas necróticas e incluso producir la muerte. Este amarillento está provocado por un cambio en la composición pigmentaria de los cloroplastos (14).

2.2.3.6 Toxicidad del hierro en la planta

Las altas concentraciones de hierro en el suelo ocasionan una inhibición en el crecimiento radicular, ocasionando a la planta afecciones en las hojas y sobre todo a las plantas adultas, estas deficiencias de nutrimentos ocasionan agravantes en las condiciones físicas y ambientales de cierto suelo (5).

2.2.3.7 Toxicidad por Hierro (Fe)

La tolerancia de las plantas frente a altas concentraciones de Fe en solución del suelo varía de acuerdo con la especie y el genotipo, las apariciones de síntomas asociados a la toxicidad son: suelo de pH ácido y condiciones de anegamiento. Las leguminosas tienen el potencial de fijar nitrógeno atmosférico, favoreciendo la acidificación de la rizósfera, a lo que

conlleva al aumentando de disponibilidad de metales pesados (Fe), las incidencias del Fe habitualmente se presentan en suelos anegados ocasionando limitaciones en un cultivo con excesividad de Fe (8).

2.2.3.8 Exceso del hierro en el cultivo de arroz

La toxicidad de hierro (Fe) este metal se encuentra en altas concentraciones, las plántulas de arroz recién trasplantadas pueden ser afectadas por la acumulación de Fe. La absorción tomada por plántulas de arroz en presencia de Fe^{2+} , debido al incremento en la permeabilidad de la raíz y al aumento del cambio microbiano de Fe^{3+} a Fe^{2+} (reducción) en la rizosfera (1).

Una cantidad alta de Fe en las plantas puede incrementar la formación de radicales de oxígeno, los cuales son fitotóxicos y además responsables de la degradación de las proteínas y la peroxidación de los lípidos de la membrana celular. La excesiva absorción de Fe incrementa la actividad de la polifenol oxidasa, lo que conduce a la producción de fenoles oxidados, proceso que causa el bronceamiento de las hojas (1).

2.2.3.9 Influencia del hierro en plantas de arroz

Promueve amarillamiento foliar, ocasionando una pérdida de su funcionamiento en la planta e inactividad del órgano. La toxicidad directa sucede cuando en las hojas del cultivo cuando es absorbida una gran cantidad de Fe, causando un color herrumbroso (amarillo rojizo) en forma de manchas en las hojas, mientras que en la punta de las hojas inferiores avanza gradualmente el daño mineral (6).

2.2.3.10 Fósforo

El fósforo es uno de los elementos esencial en la vida vegetal, constituyéndose como un componente primario de los sistemas responsables de la capacitación, almacenamiento y transferencia de energía, sus estructuras de macromoléculas, son los ácidos nucleicos poseyendo un papel significativo en los procesos fisiológicos de las plantas (26).

2.2.3.11 Deficiencia de fósforo en plantas

Las carencias de fósforo pueden causar en suelos bien provistos de este nutrimento, por reducción de su disponibilidad en suelos ácidos o básicos, debido a la fijación del carbonato de calcio, a bajas temperaturas o en condiciones de baja humedad relativa, también se puede producir deficiencia en suelos húmicos, debido a bajos contenidos en fósforo, así como a baja solubilidad (28).

2.2.3.12 Sintomatología causada por deficiencias de fósforo

La deficiencia puede ser no evidenciada en la planta, es decir los síntomas no se expresan hasta cuando se realiza un análisis foliar en las plantas para el observar los niveles de fósforos en los cultivos y ser identificado. Las condiciones de manejo del cultivo o de clima pueden complicar la apariencia de la planta y causar dificultad en la determinación. Por ejemplo; el efecto de herbicidas, daño por insectos, bajas temperaturas, entornos con excesos de humedad y compactación pueden causar deficiencias temporales de este nutriente (27).

2.2.4 Interacciones bacterias-metales

2.2.4.1 Interacción de fósforo – hierro

En el suelo, se retiene el ión fosfato en la parte superior, la precipitación que se produce por los iones fosfatos y férricos se quedan en la superficie del suelo, causando una insolubilidad muy elevada. Las interacciones entre estos dos elementos se pueden explicar cómo una reacción de precipitación de fosfato férrico externamente a la superficie radicular (29).

2.2.4.2 Interacciones con la superficie celular

La interacción inicial entre las bacterias y los metales, ocurre por atracción electrostática entre los iones cargados en solución y los grupos funcionales de la superficie celular microbiana (25).

2.2.4.3 Interacciones intracelulares

Las interacciones a nivel intracelular entre bacterias y metales pesados, se inician con un proceso activo conocido como bioacumulación, seguido de transformaciones enzimáticas y/ o inducción de la síntesis de proteínas enlazadoras (25).

2.2.4.4 Interacciones planta – patógeno en mecanismo general de defensa

La interacción planta-patógeno puede ser explicada por dos vías. La primera incluye interacciones entre los mecanismos generales de protección constitutivos de la planta y los componentes de virulencia producidos por el patógeno encaminados a destruir la defensa. La segunda, seguido del reconocimiento inicial, la planta incita resistencia obtenida mientras que la patógena trata de escapar a esta tenacidad (22).

La defensa general de la planta consiste de factores químicos y físicos. Las defensas físicas incluyen cutículas, las cuales son fuertes cubiertas de polímeros de las superficies externas de la planta, pectinas que existen en las paredes celulares y lámina media que afectan la adherencia entre las células, y las paredes celulares, las cuales protegen a las células vegetal de los daños externos (22).

CAPITULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Localización de la Investigación

La presente investigación se realizó en el Laboratorio e invernadero de Microbiología, de la universidad Técnica Estatal de Quevedo ubicado en el Campus “La María”, situada en el km 7,5 vía Quevedo- El Empalme, provincia de Los Ríos. Sobre las coordenadas 01° 04’ 48.6” de latitud sur y 79° 30’04.2” de longitud oeste, a una altitud de 70 msnm.

Tabla 1

Condiciones agroclimáticas del área de estudio.

Parámetros	Promedio
Temperatura media	25.1 °C
Humedad relativa	84%
Precipitación	2286.6 mm
Heliofania, horas luz año ⁻¹	894
Zona ecológica	Bh-T
Topografía	Ondulado
Clima	Tropical húmedo

Fuente: (Estación meteorológica INHAMI; Estación Experimental Tropical Pichilingue, 20012-2020).

3.2 Tipo de investigación

El trabajo es de tipo experimental. En el cual se fomentó a la evaluación del empleo potencial de PGPR solubilizadores de minerales y productoras de fitohormonas en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.).

3.3 Método de investigación

En el proyecto de investigación se recurrieron los siguientes métodos: observación, cualitativo, cuantitativo y analítico que han permitido relacionar el trabajo de investigación con la revisión bibliográfica mencionada en este proyecto.

➤ **Método de observación:** Consiste en identificar, la investigación que se realizó por medio de la observación de cada uno de los instrumentos que se utilizaron en el ámbito de laboratorio para las pruebas a realizar de manera in vitro y ámbito de campo.

➤ **Método cualitativo:** Se basa en la expresión oral y escrita de la conducta visible. En la investigación el método antes mencionado ayudo en la descripción de los ensayos realizados en el invernadero y en laboratorio.

➤ **Método cuantitativo:** El método cuantitativo es una metodología de investigación que se centra en cuantificar la recopilación y el análisis de datos. Fue practicado al finalizar en el análisis de datos obtenidos en el transcurso del trabajo de investigación.

➤ **Método analítico:** Consiste en descomponer un objeto de estudio separando cada una de las partes del todo para estudiarlas en forma individual. El método analítico fue primordial al momento de realizar ensayos no fáciles de trabajar en conjuntos.

3.4 Fuentes de recopilación de información

3.4.1 Fuente primaria

Proviene de la información de campo registrando los implementos utilizados en laboratorio para la investigación aplicados en cada uno de los tratamientos realizados.

3.4.2 Fuente secundaria

Estas fuentes provinieron de esta manera investigativa a través de artículos científicos, revistas, tesis, libros entre otras fuentes investigativas.

3.5 Diseño de la investigación

3.5.1 Tratamientos

Los tratamientos empleados en la investigación fueron aplicados como estudio 10 cepas bacterianas, las cuales se sometieron a pruebas bioquímicas y de invernadero tabla 2.

Tabla 2

Tratamientos empleados

Tratamiento 1	<i>Serratia Marescens</i> PM 3-8
Tratamiento 2	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> BMR 2-12
Tratamiento 3	<i>Pseudoma veronii</i> R4
Tratamiento 4	<i>Pseudoma putida</i> PB 3-6
Tratamiento 5	<i>Acinetobacter sp</i> BMR 2-2
Tratamiento 6	<i>Enterobacter asburiae</i> PM 3-14
Tratamiento 7	<i>Klebsiella variicola</i> BO 3-4
Tratamiento 8	<i>Enterobacter asburiae</i> BA 4-19
Tratamiento 9	<i>Pseudomona putida</i> BMR 2-4
Tratamiento 10	<i>Pseudomona protegens</i> CHA0

Fuente. Laboratorio microbiología UTEQ Campus ‘‘La María’’-
Elaboración: Autora

3.5.2 *Diseño experimental – in vitro*

3.5.2.1 *Diseño cualitativo para la producción de exopolisacáridos*

La producción de exopolisacáridos se obtuvo mediante la visualización obtenida en el ensayo empleado. Se registró una escala de + (Poca producción), ++ (Media producción), +++ (Alta producción) y – (Sin producción).

3.5.2.2. *Diseño para el ácido Indolacético y ureasa de diferentes cepas PGPRs*

Se utilizó el modelo (DCA) diseño completamente al azar, para determinar la producción del ácido Indolacético y ureasa. Se realizó la prueba de Tukey al 0.5% de probabilidad, con objeto de determinar diferencia significativa entre los parámetros evaluados tabla 3.

Tabla 3

Esquema del Análisis de Varianza para el ácido Indolacético y ureasa

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	9
Error Experimental	20
Total	29

3.5.2.3 *Diseño para la solubilización de fósforo y potasio de diferentes cepas PGPRs*

Se utilizó el modelo (DCA) diseño completamente al azar, para determinar la solubilización de Fósforo y Potasio. Se realizó la prueba de Tukey al 0.5% de probabilidad, con objeto de determinar diferencia significativa entre los parámetros evaluados tabla 4.

Tabla 4

Esquema del análisis de varianza a la solubilización de fósforo y potasio

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	9
Error Experimental	20
Total	29

3.5.2.4 *Diseño para la evaluación de tolerancia de las PGPRs bajo el empleo de diversas concentraciones de hierro*

Se utilizó el modelo (DCA) diseño completamente al azar, para evaluar la tolerancia de las PGPRs bajo el empleo de diversas concentraciones de hierro (500, 1000 y 1500 ppm). Se realizó la prueba de Tukey al 0.5% de probabilidad, con objeto de determinar diferencia significativa entre los parámetros evaluados tabla 5 y 6.

Tabla 5

Esquema del análisis de varianza a la evaluación de tolerancia de las PGPRs bajo el empleo de diversas concentraciones de hierro

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	2
Error Experimental	6
Total	8

Tabla 6

Características de las unidades evaluadas a diferentes concentraciones de hierro.

Ensayos	Replicas	Bacterias
Concentraciones de hierro		
500 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Pseudoma veronii</i> (R4), <i>Pseudoma putida</i> (PB 3-6), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (PM 3-14), <i>Klebsiella variicola</i> (BO 3-4), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4), <i>Pseudomona protegens</i> (CHA0).
	2	
	3	
1000 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Pseudoma veronii</i> (R4), <i>Pseudoma putida</i> (PB 3-6), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (PM 3-14), <i>Klebsiella variicola</i> (BO 3-4), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4), <i>Pseudomona protegens</i> (CHA0).
	2	
	3	
1500 pmm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Pseudoma veronii</i> (R4), <i>Pseudoma putida</i> (PB 3-6), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (PM 3-14), <i>Klebsiella variicola</i> (BO 3-4), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4), <i>Pseudomona protegens</i> (CHA0).
	2	
	3	

Fuente. Laboratorio microbiología UTEQ Campus ‘‘La María’’-

3.5.2.5 Diseño para la evaluación de tolerancia bajo el empleo de diversas concentraciones de hierro

Se utilizó el modelo (DCA) diseño completamente al azar, para evaluar la tolerancia de las cinco mejores cepas bajo el empleo de diversas concentraciones de hierro (2000, 2500 y 3000 ppm). Se realizó la prueba de Tukey al 0.5% de probabilidad, con objeto de determinar diferencia significativa entre los parámetros evaluados, tabla 7.

Tabla 7

Esquema del Análisis de Varianza a la tolerancia de las cinco mejores cepas tolerantes a hierro

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	3
Error Experimental	8
Total	11

Las características de las unidades evaluadas en la representación de los tratamientos empleados en la investigación sobre un diseño DCA, se evaluó el efecto al aumento de 2000 ppm de hierro, a diferentes horas, con objeto de determinar el punto de tolerancia durante el periodo empleado, tabla 8.

Tabla 8

Características de las unidades evaluadas; 2000 ppm

Tratamiento	Ensayos	Replicas	Descripción
Horas			
24	2000 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)
		2	
		3	
48	2000 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)
		2	
		3	
72	2000 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)
		2	
		3	
96	2000 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)
		2	
		3	

Las características de las unidades evaluadas en la representación de los tratamientos empleados en la investigación sobre un diseño DCA, se evaluó el efecto al aumento de 2500 ppm de hierro, a diferentes horas, con 4 tratamientos (Horas) con 3 réplicas, con objeto de determinar el punto de tolerancia durante el periodo empleado, tabla 9.

Tabla 9

Características de las unidades evaluadas;2500 ppm

Tratamiento	Ensayos	Replicas	Descripción
Horas			
24	2500 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2),
		2	<i>Enterobacter asburiae</i>
		3	(BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)
48	2500 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2),
		2	<i>Enterobacter asburiae</i>
		3	(BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)
72	2500 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2),
		2	<i>Enterobacter asburiae</i>
		3	(BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)
96	2500 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2),
		2	<i>Enterobacter asburiae</i>
		3	(BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)

Fuente. Laboratorio microbiología UTEQ Campus ‘La María’-

Las características de las unidades evaluadas en la representación de los tratamientos empleados en la investigación sobre un diseño DCA, se evaluó el efecto al aumento de 2500

ppm de hierro, a diferentes horas, con 4 tratamientos (Horas) con 3 réplicas, con objeto de determinar el punto de tolerancia durante el periodo empleado, tabla 10.

Tabla 10

Características de las unidades evaluadas;3000 ppm

Tratamiento	Ensayos	Replicas	Descripción
Horas			
24	3000 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)
		2	
		3	
48	3000 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)
		2	
		3	
72	3000 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)
		2	
		3	
96	3000 ppm	1	<i>Serratia Marescens</i> (PM 3-8), <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (BMR 2-12), <i>Acinetobacter sp</i> (BMR 2-2), <i>Enterobacter asburiae</i> (BA 4-19), <i>Pseudomona putida</i> (BMR 2-4)
		2	
		3	

Fuente. Laboratorio microbiología UTEQ Campus ‘‘La María’’-

3.5.3 *Diseño en fase in vivo*

3.5.3.1 *Diseño para la aplicación de las PGPRs en las plántulas de arroz in-vivo*

Se utilizó el modelo (DCA) diseño completamente al azar, para evaluar los parámetros morfológicos en las plántulas de arroz inoculadas con bacterias PGPRs cultivadas a diferentes concentraciones de hierro tabla 11.

Tabla 11

Esquema del Análisis de Varianza de la inoculación de las bacterias PGPR en plántulas de arroz in vivo

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	4
Error Experimental	15
Total	19

3.5.3.2 *Características del área de investigación*

En la presente investigación se emplearon las siguientes características experimentales tabla 12.

Tabla 12

Características de las unidades experimentales.

Características	Unidades experimentales
Número de tratamientos	5
Número de plantas por tratamiento	12
Número de réplicas por tratamiento	3
Número de unidades por repetición	4
Número de unidades experimentales	60
Forma del ensayo	Rectangular

Elaboración. Autora

La representación de los tratamientos empleados en la investigación sobre un diseño DCA, para la identificación de los parámetros morfológicos en las plántulas de arroz inoculadas con bacterias PGPRs cultivadas a diferentes concentraciones de hierro, con 5 tratamientos con 4 repeticiones y 4 unidades experimentales. Se seleccionaron las 5 mejores cepas que expresaron mayor producción de exopolisacáridos, ac. Indolacético y ureasa; solubilización de Fósforo y Potasio, empleando en consorcio bacteriano a las plántulas. Los tratamientos consistieron en diferentes concentraciones de hierro tabla 13.

Tabla 13

Características de las unidades evaluadas

Tratamientos	Descripción	Replicas	Unidad
Tratamiento 1	Combinación de PGPRs (<i>Enterobacter asburiae</i> PM 3-14, <i>Serratia marcesns</i> PM 3-8, <i>Enterobacter asburiae</i> BA 4-19, <i>Acinetobacter sp</i> BMR 2-2, <i>Psudomona putida</i> BMR 2-4)	1	4 plantas (5ml de solución)
		2	
		3	
		4	
	+		
	250 ppm de Hierro/300 g de Suelo seco Dosis: [320 ml de agua/80 ml de consorcio bacteriano (Relación al 20 %)]		
		1	

Tratamiento 2	Combinación de PGPRs (<i>Enterobacter asburiae</i> PM 3-14, <i>Serratia marcesns</i> PM 3-8, <i>Enterobacter asburiae</i> BA 4-19, <i>Acinetobacter sp</i> BMR 2-2, <i>Pseudomona putida</i> BMR 2-4)	2	
	+		4 plantas
	500 ppm de Hierro/300 g de Suelo seco Dosis: [320 ml de agua/80 ml de consorcio bacteriano (Relación al 20 %)]	3	(5ml de solución)
		4	
Tratamiento 3	Combinación de PGPRs (<i>Enterobacter asburiae</i> PM 3-14, <i>Serratia marcesns</i> PM 3-8, <i>Enterobacter asburiae</i> BA 4-19, <i>Acinetobacter sp</i> BMR 2-2, <i>Pseudomona putida</i> BMR 2-4)	1	
	+	2	4 plantas (5ml de solución)
	750 ppm de Hierro/300 g de Suelo seco Dosis: [320 ml de agua/80 ml de consorcio bacteriano (Relación al 20 %)]	3	
		4	
	Combinación de PGPRs (<i>Enterobacter asburiae</i> PM 3-14, <i>Serratia marcesns</i> PM 3-8, <i>Enterobacter asburiae</i> BA 4-19, <i>Acinetobacter sp</i> BMR 2-2, <i>Pseudomona putida</i> BMR 2-4)	1	
		2	

Tratamiento 4	+		
Sin Hierro			4 plantas
Dosis:			(5ml de solución)
[320 ml de agua/80 ml de consorcio bacteriano (Relación al 20 %)]		3	
(Control positivo)			
		4	
		1	
Sin aplicación de bacterias			
Tratamiento 5	+	2	
Sin Hierro			4 plantas
(Testigo Absoluto)		3	(- de solución)
		4	

Fuente. Laboratorio microbiología UTEQ Campus “La María”-
Elaboración: Autora

3.6 Instrumentos de investigación

3.6.1 Manejo del experimento

3.6.1.1 Preparación de pre-inóculo en medio king b

La preparación del pre-inóculo realizado mediante la selección de 10 cepas PGPRs, obtenidas del banco de germoplasma del laboratorio de Microbiología y Biología Molecular

de la UTEQ, se inoculó en un medio de cultivo King B líquido y se incubó en un shaker Benchmark incushaker® a 150 rpm en agitación constante a 26 °C por 48 h.

3.6.1.2 Prueba de compatibilidad

Las bacterias seleccionadas del banco de germoplasma, realizado para el crecimiento de las cepas en medio King B líquido individualmente en matraces de 25 ml durante 48 h a 150 rpm, del crecimiento pre-inocuo se cosechó 10 µl de cada cepa PGPRs y se cultivó mediante la técnica de estriado en placas Petri que contiene King B sólido (Peptona 20 g, fosfato de potasio 1.5 g, sulfato de magnesio 1.5 g, glicerol 15 ml/ L, agar 20 g) durante 48 hr a temperatura ambiente. En la determinación de compatibilidad se recolectó las mejores colonias crecidas con un aza de cada bacteria y se cultivó en línea cruzada cada cepa en placas Petri, donde ya se identifica la cepa. La prueba determina la inhibición o compatibilidad entre bacterias.

3.6.1.3 Pruebas bioquímicas

3.6.1.4 Producción de exopolisacáridos

La producción de exopolisacáridos de bacterias, se utilizó 1000 ml del medio YMB (yeast extract 0.4 g, manitol 10 g, cloruro de sodio 0.1 g, MgSo47H2O 0.2 g, K2HPO4 0.5 g) durante 48 hr, se descartó el medio celular y se llevó a cabo dos lavados: primer lavado con tampón fosfato salino 1000 ml (Cloruro de sodio 8 g, cloruro de potasio 0.2 g, Na2HO4 1.44g, KH2PO4 0.24g) por 5 s, para posteriormente aplicar la solución de cristal violeta 100 ml [Solución Madre (cristal violeta 1 g, agua destilada 100 ml)] en relación ^{1/9} durante 30 min; segundo lavado con agua destilada, calificando cualitativamente la prueba.

3.6.1.5 Producción de ácido indolacético

La producción de AIA se estimó mediante la técnica colorimétrica basada en el reactivo de Salkowski. Las cepas se cultivaron en medio King B suplementado con L-triptófano (0,025 Mm) durante 24, 48 y 72 h a 150 rpm. Se cosechó 1 ml cada 24 h del crecimiento bacteriano y se centrifugó a 10 000 rpm durante 5 min, se recolectó 250 µl del

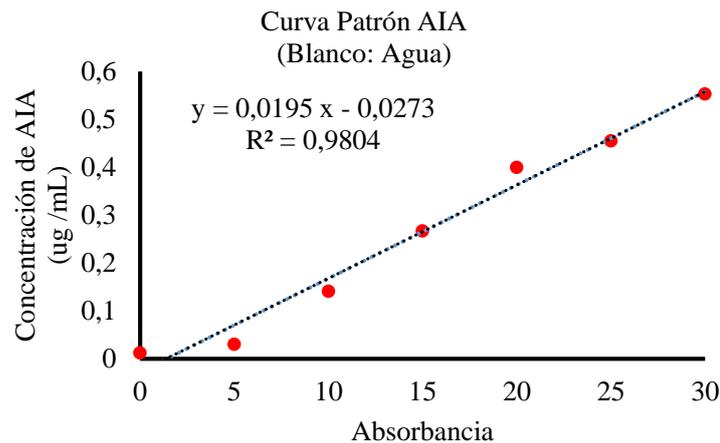
sobrenadante y se añadió el reactivo de Salkowski (1:4) durante 30 min a oscuridad. Las muestras positivas pasaron de tonos de rosa a rosa intenso, mientras que las muestras negativas presentaban coloraciones amarillo claro. El estudio se registró a 530 Nm (OD), registrando la cantidad de AIA en µg/ml trazando la curva estándar.

3.6.1.6 Curva patrón de ácido Indolacético de bacterias PGPRs

La prueba de producción de ácido indolacético por parte de las bacterias PGPRs empleadas cuantifica la cantidad de índoles totales, en donde se realizó una curva patrón (Blanco: Agua) utilizando diferentes blancos en el espectrofotómetro figura 1.

Figura 1

Curva lineal de concentración de AIA (Blanco: Agua)

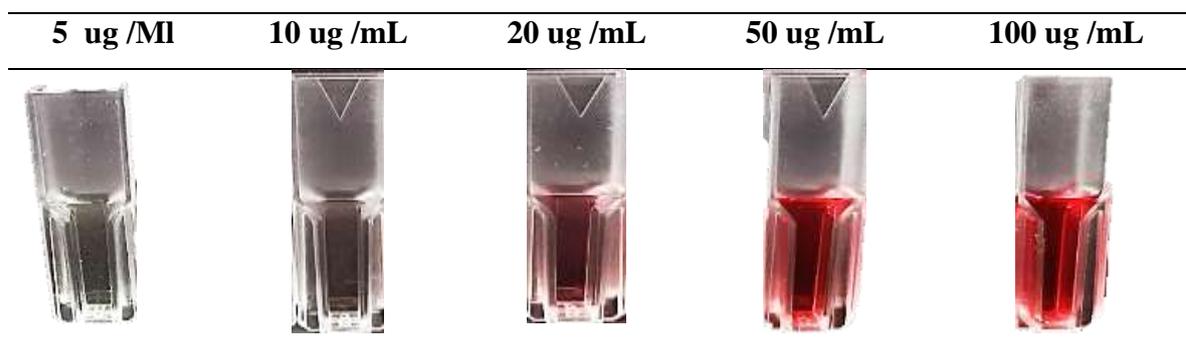


Elaboración. Autora

La producción de ácido indolacético por parte de las bacterias PGPRs se muestra evidenciadas en cada una de las muestras con sus diferentes concentraciones y se puede evidenciar su variabilidad con la tonalidad de intensidad de color figura 2.

Figura 2

Muestras del contenido curva patrón del ácido indol acético



Elaboración: Autora

3.6.1.7 Producción de ureasa

Se realizó el crecimiento de las bacterias en medio King B líquido por 24 h, se recuperó 20 µl y se cultivó en placas Petri que contiene el medio Christensen Agar (Dextrosa 1 g, Agar bacteriológico 15 g, Peptona 1 gr, Fosfato monopotasio 2 g, Rojo fenol 0,012 g, Cloruro sódico 5 g, ajustando el pH de 7,2 a 25 °C), para la determinación de ureasa se utilizó la metodología *Nguyen et al., 1992* (34) en periodos de 24, 48 y 72 horas. El porcentaje de solubilización se determinó con la siguiente fórmula:

$$\text{Solubilización \%} = \frac{\text{Diámetro de halo} - \text{diámetro de colonia}}{\text{Diámetro de colonia}} \times 100\%$$

Donde:

% Solubilización es la tasa de solubilización presentadas por las bacterias

Diámetro de la colonia es el crecimiento que es presente en la bacteria

Diámetro del halo es el alrededor de la colonia que es formado

3.6.1.8 Solubilización de potasio

Se realizó el crecimiento de las bacterias en medio King B líquido por 24 h a 180 rpm, se recuperó 5 µl y se cultivó en placas Petri que contiene el medio Pikovskaya modificado (Glucosa 10 gr, Nitrato de potasio 5gr, Cloruro de potasio 0,2 gr, Sulfato de amonio 0,5 gr, Sulfato de magnesio 0,1 gr, Purpura bromocresol 0,125 gr, Agar 15 gr) durante 24, 48 y 72

horas, para la determinación en la solubilización de Potasio se utilizó la metodología por *Nguyen et al., 1992.*, (34). El porcentaje de solubilización se determinó con la siguiente fórmula:

$$\text{Solubilización \%} = \frac{\text{Diámetro de halo} - \text{diámetro de colonia}}{\text{Diámetro de colonia}} \times 100\%$$

Donde:

% Solubilización es la tasa de solubilización presentadas por las bacterias

Diámetro de la colonia es el crecimiento que es presente en la bacteria

Diámetro del halo es el alrededor de la colonia que es formado

3.6.1.9 Solubilización de fósforo

Se realizó el crecimiento de las bacterias en medio King B líquido por 24 h a 180 rpm, se recuperó 5 µl y se cultivó en placas Petri que contiene el medio Pikovskaya (Glucosa 10 gr, Fosfato de calcio 5 g, Cloruro de magnesio hexahidratado 5 gr, Cloruro de potasio 0,2 g, Sulfato de amonio 0,1 g, Agar 20 g.) durante 24, 48 y 72 horas. Para identificar el porcentaje de solubilidad por parte de las bacterias se realizó por la técnica de *Nguyen et al., 1992* (34). La solubilización con la respectiva fórmula de solubilización.

$$\text{Solubilización \%} = \frac{\text{Diámetro de halo} - \text{diámetro de colonia}}{\text{Diámetro de colonia}} \times 100\%$$

Donde:

% Solubilización es la tasa de solubilización presentadas por las bacterias

Diámetro de la colonia es el crecimiento que es presente en la bacteria

Diámetro del halo Es el alrededor de la colonia que es formado

3.6.1.10 Evaluación de las cepas PGPRs sometidas a diversas concentraciones de hierro

Se realizó el crecimiento de las bacterias en diferentes concentraciones de Hierro a 500, 1000 y 1500 ppm en medio King B en relación ¼ (25 ml de medio King B y 175 de agua destilada) durante 24, 48 y 72 hr a 150 rpm. Se cosechó 1 ml cada 24 horas del crecimiento bacteriano registrando la densidad óptica de 600 Nm (OD).

3.6.1.11 Selección de las cepas PGPRs con potencial tolerante a diversas concentraciones de hierro

Se determinó mediante el estudio anterior seleccionar cinco cepas PGPRs con mayor potencial a la tolerancia del Hierro y se aumentó el rango de tolerancia a 2 000, 2 500 y 3 000 ppm. Se realizó el crecimiento de las bacterias en medio King B en relación ¼ (25 ml de medio King B y 175 de agua destilada) durante 24, 48, 72 y 96 hr a 150 rpm. Se cosecho 1 ml cada 24 horas del crecimiento bacteriano registrando la densidad óptica de 600 Nm (OD).

3.6.1.12 Selección de cepas PGPRs con alto potencial en la producción de fitohormonas, solubilizadores de minerales

Se determinó mediante los estudios realizados anteriormente seleccionar 5 cepas PGPRs con mayor potencial en la producción de fitohormonas, solubilizadores de nutrientes y tolerantes a Hierro con objeto de producir las bacterias en bioformulados (consorcio bacteriano). El crecimiento bacteriano que se obtuvo durante 48 hr en fermentación anaeróbica.

3.6.1.13 Empleo de diferentes concentraciones de hierro al suelo propio de las plántulas de arroz e inoculación del consorcio bacteriano

Al suelo propio de las plántulas de arroz se empleó diferentes concentraciones de hierro a 250, 500 y 750 ppm / 100 g de Suelo seco, en forma líquida. Se cultivaron 5 semillas

de arroz por maceta, como medio de biomineralizador y bioprotector se aplicó 80 ml/320 ml de agua a los 15 y 25 días. El ensayo se realizó en un periodo de 30 días.

3.6.2 Variables a evaluar

Las variables a evaluar de manera in vivo se presentan a continuación:

3.6.2.1 Altura de planta (cm)

Para la evaluación de la altura de las plántulas de arroz de cada tratamiento se midió en el día 25 cada tratamiento desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja de arroz, donde los datos obtenidos de esta variable fueron agregados al programa Infostat

3.6.2.3 Número de hojas (n°)

Se contó las hojas presentes en cada unidad experimental, en donde se valoró plantas útiles de cada tratamiento, esto se lo realizó en una superficie plana en el día 30, posteriormente a su finalización de la investigación experimental.

3.6.2.4 Longitud radicular (cm)

Esta variable se extrajo las plantas de cada maceta y con una cinta métrica, se midió la longitud radicular, esto se lo realizó en una superficie plana en el día 30 posteriormente a su finalización de la investigación experimental.

3.6.2.5 Peso fresco del sistema radicular (g)

El peso del sistema radicular se utilizó el método destructivo, en donde se lavaron cuidadosamente las raíces y se secaron al ambiente por entre 60 a 90 min; con objeto de eliminar residuos. Las raíces se pesaron en la balanza analítica PIONEERTM PRECISION, PX323/OHAUS.

3.6.2.6 Peso fresco del tallo (g)

Para la evaluación del peso del tallo se utilizó el método destructivo, se usó la balanza analítica PIONEERTM PRECISION, PX323/OHAUS, registrando los datos fueron agregados a Infostat versión 2020.

3.6.2.7 Peso seco del sistema radicular y del tallo (g)

Realizado el procedimiento anterior las partes vegetales seleccionadas se envolvieron en bolsas de papel con su respectiva rotulación. La muestra se llevó a una estufa de extracción de humedad (Thermo ScientificTM), durante 48 h a 65°C. Después de obtener la muestra de peso seco se inspeccionó su peso con el uso de una balanza analítica PIONEERTM PRECISION, PX323/OHAUS.

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 (DCA) y para determinar diferencia significativa, se aplicó la prueba de significación Tukey 5%.

3.7.1 *Materiales y equipos*

Los materiales y equipos empleados en la investigación pertenecen al laboratorio de la UTEQ, además se indican los empleados en la investigación:

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. Manzo Campos Teresa De Jesús, estudiante de la carrera de Agronomía.

3.8.2. Materiales de laboratorio

- Tubos de eppendorf TM (3 ml)
- Papel parafilm
- Vasos de precipitación (50 ml, 250 ml y 500ml)
- Cajas petri
- Tijeras quirúrgicas
- Matraces de 500 ml
- Tubos falcon (15 ml y 45 ml)
- Tubos de ensayos
- Cubetas de espectrofotómetro
- Pipeta pasteur

3.8.3. Equipos de laboratorio

- Balanza
- Centrífuga
- Nevera
- Bortex
- Espectrofotómetro
- Autoclave

3.8.4. Reactivos

- Cloruro de sodio
- Ácido cítrico
- Glucosa
- Fosfato de calcio
- Cloruro de magnesio hexahidratado
- Cloruro de potasio

- Sulfato de amonio
- Agar 20
- Medio King- B
- Sulfato de magnesio hepta-hidratado
- Bacto™ peptona
- Fosfato de potasio dibásico
- Cristal violeta
- Cloruro de hierro
- Ácido sulfúrico

3.8.5 Material genético

- *Serratia Marescens* PM 3-8
- *Acinetobacter calcoaceticus* BMR 2-12
- *Pseudoma veronii* R4
- *Pseudoma putida* PB 3-6
- *Acinetobacter sp* BMR 2-2
- *Enterobacter asburiae* PM 3-14
- *Klebsiella variicola* BO 3-4
- *Enterobacter asburiae* BA 4-19
- *Pseudomona putida* BMR 2-4
- *Pseudomona protegens* CHA0

3.8.6 Materiales de oficina

- Cuaderno
- Computador
- Lapicero
- Lápiz
- USB
- Pendrive
- Escritorio

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

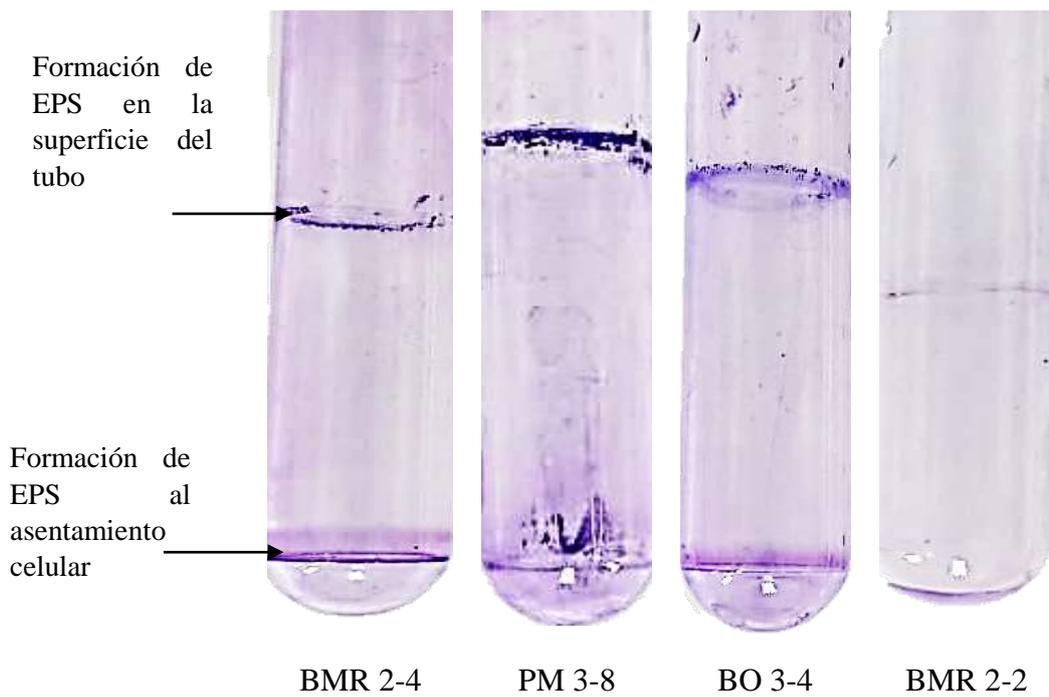
4.1 Resultados

4.1.1 Producción de exopolisacáridos

Las cepas BO 3-4 y PM 3-8 poseen la capacidad de producir exopolisacáridos, generando doble anillo sobre la superficie del medio y al asentamiento bacteriano en los tubos de ensayos, al igual que el número de anillos generados por la cepa BMR 2-4. Mientras que la cepa BMR 2-2, deficiente a la producción de EPS en la figura 3. Se visualiza la formación de anillos de exopolisacáridos, las flechas indican los anillos.

Figura 3

Formación de exopolisacáridos generadas por cepas PGPRs



Elaboración: Autora

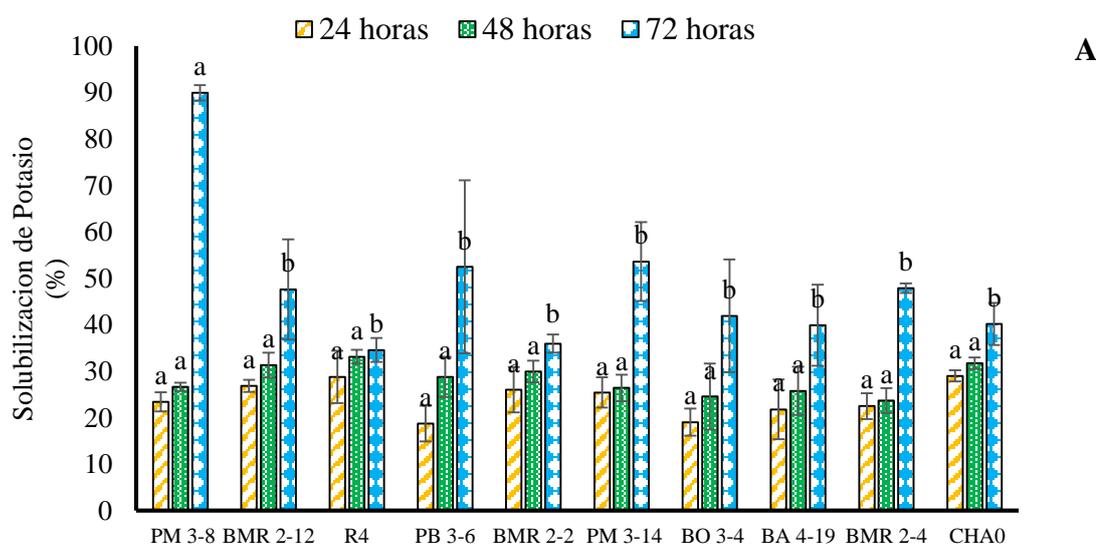
4.1.2 Bacterias solubilizadoras de potasio

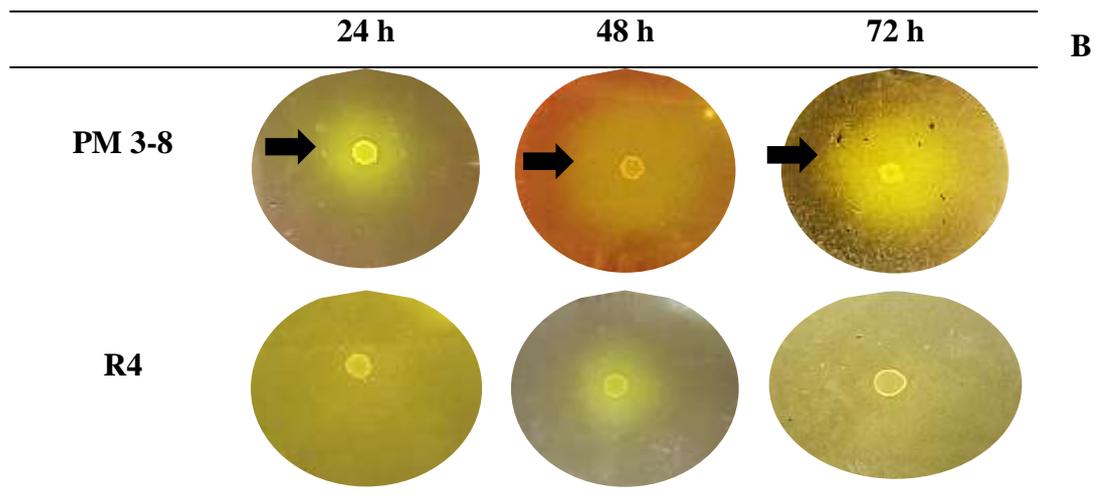
La velocidad del crecimiento celular y su potencial en la solubilización de Potasio por medio del halo bacteriano, se verificó a las 24, 48 y 72 h después de la inoculación, la cepa PM 3-8 presentó una mayor solubilización, exhibiendo porcentaje de 23.44, 26.68 y 89.99 %; respectivamente a las horas mencionadas anteriormente. Mientras que la cepa R4 no promueve menor porcentaje de mineralización con 28.8, 33.15 y 34.59 % (24, 48 y 72 horas) (figura 4 A).

El crecimiento bacteriano en placas Petri demostró una correcta expansión del halo perteneciente de la cepa PM 3-8, en donde se observa el aumento halófilo desde las 24 h, promoviendo a la bio-solubilización de potasio. Mientras que R4 logró crecer en el medio, sin embargo, no causó efecto reductor Figura 4 B, se puede observar la Solubilización de Potasio durante a las 24, 48 y 72 h, en donde se empleó 10 cepas PGPRs. Observando en la figura b la extensión del halo bacteriano con efecto solubilizador de Potasio, las flechas indican el avance de la cepa durante el periodo evaluado (figura 4 B).

Figura 4

Solubilización de potasio de 10 cepas PGPRs a las 24, 48 y 72 h, las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey.





Elaboración: Autora

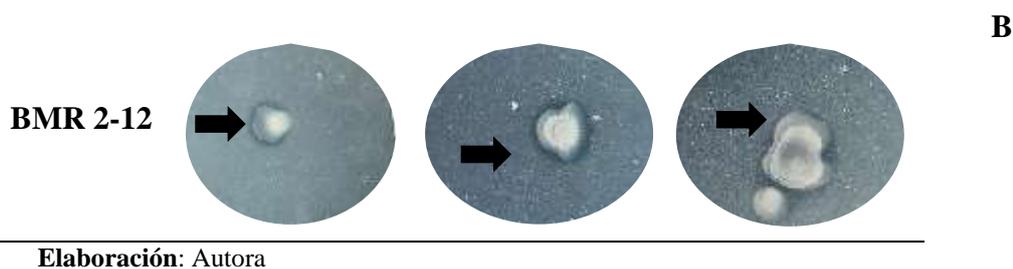
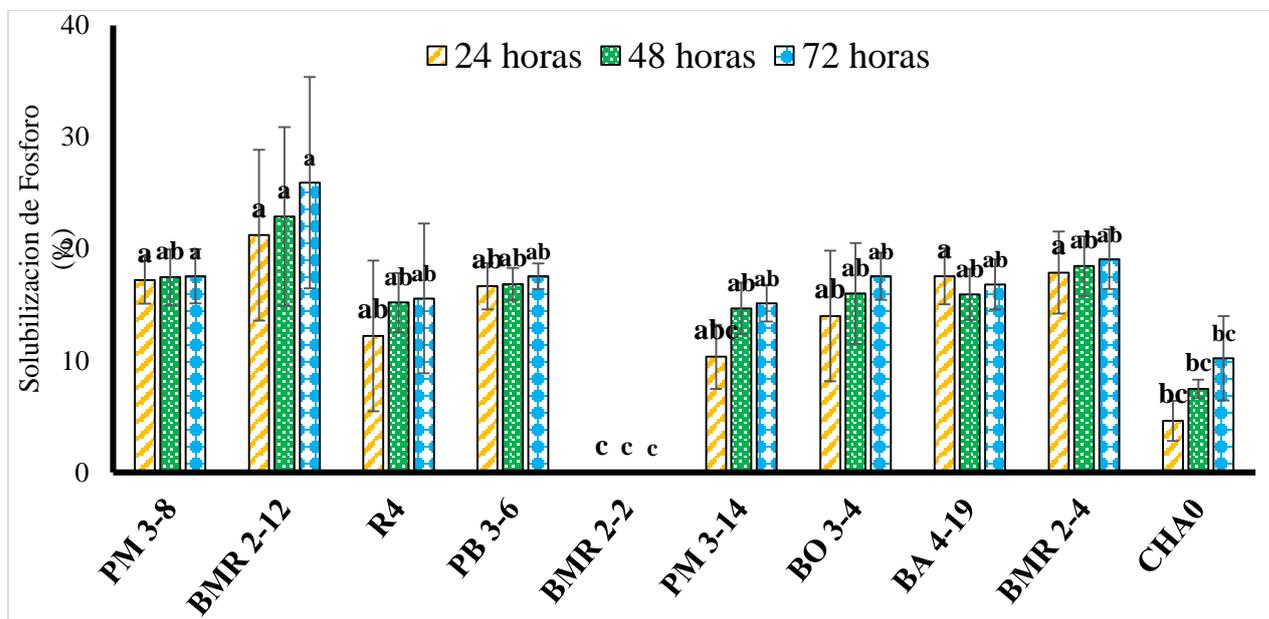
4.1.3 *Bacterias solubilizadoras de fósforo*

La velocidad del crecimiento celular y su potencial en la solubilización de Fósforo, se verificó a las 24, 48 y 72 horas después de la inoculación, la cepa BMR 2-12 presentó mayor solubilización por medio de su halo con porcentajes de 21.13, 22.91 y 25.93 %; respectivamente a las horas mencionadas anteriormente. Mientras que la cepa reveló menor porcentaje de solubilización ante las demás cepas con 4.61, 7.47 y 10.21 % (24, 48 y 72 horas). Cabe mencionar que la cepa BMR 2-2 creció en el medio, pero no extendió su halo sobre el mineral (figura 5 A).

El comportamiento de la cepa BMR 2-12 con efecto a bio-solubilizar fósforo promovió alto impacto sobre el mineral, en donde se evidenció un rápido acceso halófilo e influyendo sobre el medio desde las 24 h, revelando poseer capacidad de desdoblar dicho nutriente y aceptarlo como fuente de nutritiva (figura 5 B), Se puede observar la Solubilización de Fósforo durante a las 24, 48 y 72 h, en donde se empleó 10 cepas PGPRs. B Extensión del halo bacteriano con efecto solubilizador de Fosforo, las flechas indican el avance de la cepa durante el periodo evaluado.

Figura 5

Solubilización de fósforo de 10 cepas PGPRs a las 24, 48 y 72 h, las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey



4.1.4 Bacterias productoras de ureasa

Las diferentes bacterias PGPRs cultivadas en medio Cristensen's Urea Agar en la determinación de la producción de ureasa se verificó la cepa BMR 2-2 posee alta capacidad de producir dicha enzima, indicando porcentajes de 43.24, 33.40 y 37.35 % durante las 24, 48 y 72 h. Cabe indicar que la cepa BO 3-4 reveló a las 24 h, crecer y emitir producción de ureasa, sin embargo, no reveló desarrollar el halo de solubilización sobre el medio de cultivo, por ello no resultó indicar porcentajes mediante la fórmula aplicada (figura 6 A).

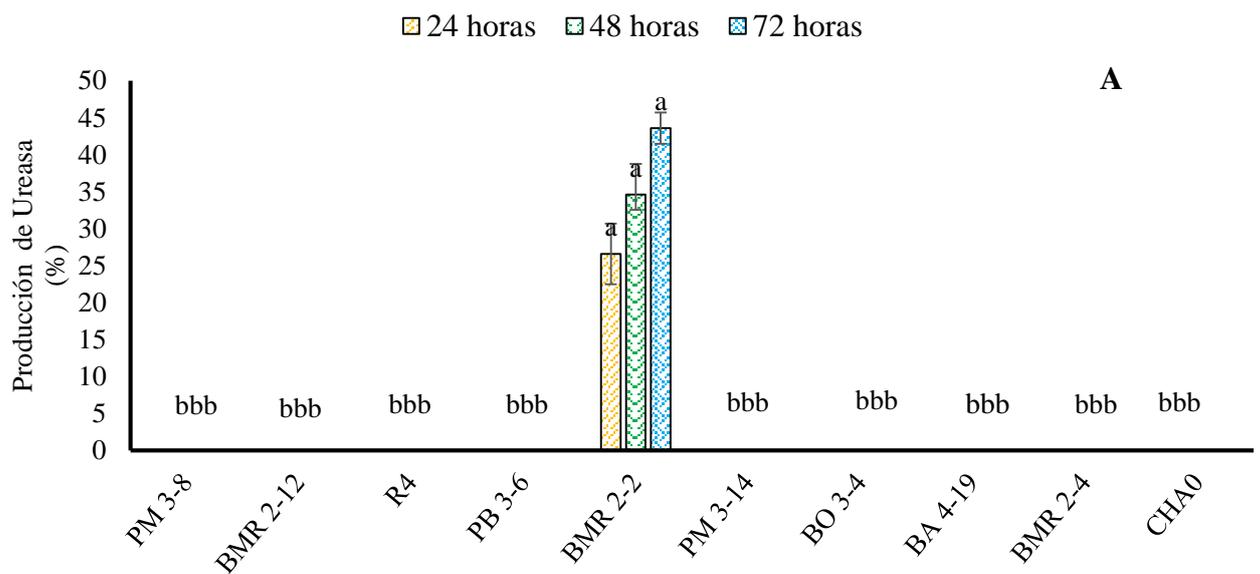
La cepa BMR2-2 reveló poseer la capacidad de producir ureasa desde las 24 h, revelando un rápido aprovechamiento del medio Cristensen's Urea, la producción de la

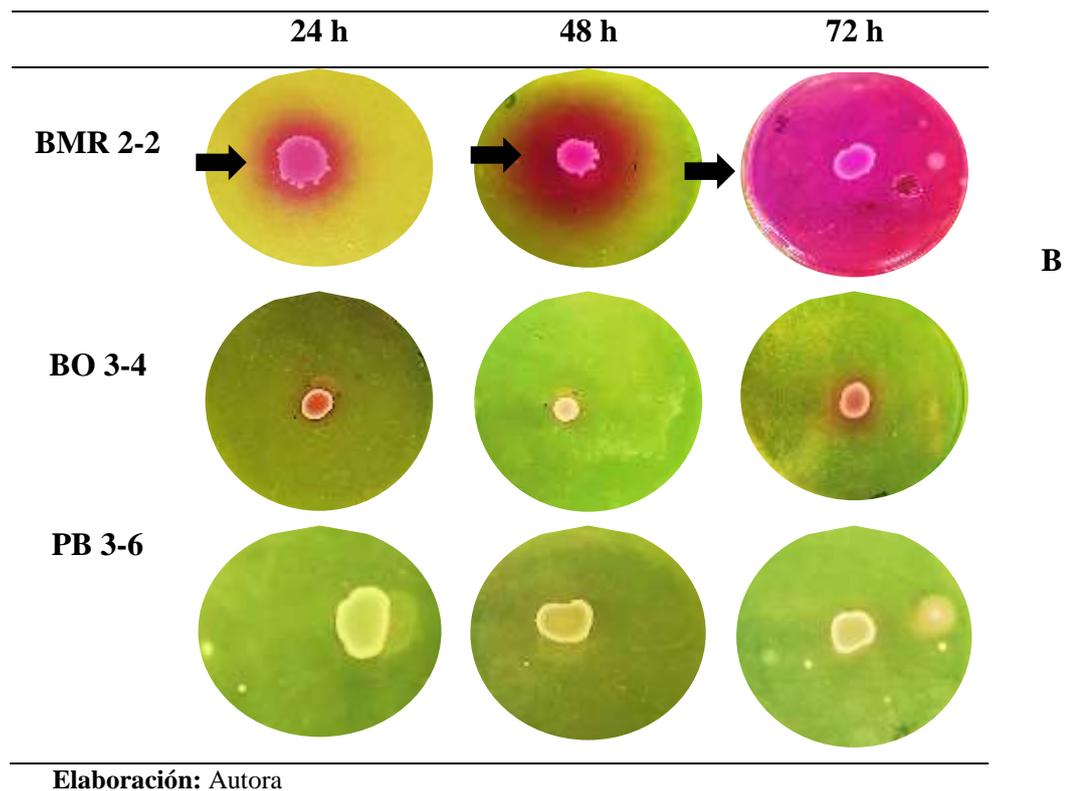
enzima altera el medio nutritivo expresándose con tonalidades rojizas. Mientras que cepas BO 3-4 no desarrollo su potencial halófilo, impidiendo secretar dicha enzima figura 6 B.

En la figura se puede mostrar la Producción de ureasa durante a las 24, 48 y 72 h, en donde se empleó 10 cepas PGPRs. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey. B Producción de ureasa, las flechas indican el avance en tonalidad rojiza, de la cepa durante el periodo evaluado.

Figura 6

Producción de ureasa de 10 cepas PGPRs a las 24, 48 y 72 h, las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey





4.1.5 *Cinética de crecimiento y densidad óptica de las cepas PGPRs sometidas a diferentes concentraciones de hierro*

4.1.5.1 *Efecto de cepas PGPRs sometidas a 500 ppm de hierro*

El efecto de un micro-ambiente férrico a 500 ppm, determinó el potencial de diferentes bacterias PGPRs con capacidad de absorber el hierro y aprovechar para su incremento o estabilidad celular, en donde se identificó a las 24, 48 y 72 h las mejores respuestas del contenido UFC/ μL de las cepas PB 3-6 ($3,97\text{E}+08$, $1,50\text{E}$ y $1,45\text{E}+08$ 72); BMR (2-4 $1,8\text{E}+10$, $8,37\text{E}+09$ y $9,23\text{E}+09$); CHA0 ($2,47\text{E}+09$, $1,60\text{E}+09$ y $1,38\text{E}+10$). Mientras que BMR 2-12 revela cargas de ($9,93\text{E}+08$, $1,22\text{E}+09$ y $1,60\text{E}+06$) demostrando poseer poca adaptación al medio tabla 14.

Tabla 14

Cinética de crecimiento de cepas PGPRs sometidas a concentraciones de 500 ppm de hierro a las 24, 48 y 72 h; las diferentes letras significan diferencias significativas a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey.

		500 ppm de Hierro		
		24 h	48 h	72 h
PM 3-8	UFC/ μ L	2,57E+05 B	2,70E+07 B	1,33E+07 A
BMR 2-12	UFC/ μ L	9,93E+08 A	1,22E+09 A	1,60E+06 A
R4	UFC/ μ L	1,50E+08 A	2,70E+08 A	2,53E+07 A
PB 3-6	UFC/ μ L	3,97E+08 A	1,50E+08 A	1,45E+08 B
BMR 2-2	UFC/ μ L	1,18E+08 B	1,04E+08 B	2,63E+08 B
PM 3-14	UFC/ μ L	1,11E+10 AB	1,42E+07 A	1,16E+10 A
BO 3-4	UFC/ μ L	1,90E+08 A	1,73E+09 A	1,15E+10 A
BA 4-19	UFC/ μ L	3,27E+09 A	1,53E+09 B	8,93E+09 A
BMR 2-4	UFC/ μ L	1,18E+10 B	8,37E+09 A	9,23E+09 B
CHA0	UFC/ μ L	2,47E+09 A	1,60E+09 A	1,38E+10 A

Elaboración: Autora

4.1.5.2 Efecto de cepas PGPRs sometidas a 1000 ppm de hierro

El efecto a concentraciones de 1000 ppm de hierro, indicó a las 24, 48 y 72 h mejores respuestas del contenido UFC/ μ L de las cepas PM 3-14 con (1,04E+10, 1,23E+07 y 1,11E+10); CHA0 (2,50E+09, 1,57E+09 y 1,26E+10). Mientras que BMR 2-12 promueven el aumento del contenido celular, sin embargo, ejerce una reducción total del hierro a las 72

h. Cabe mencionar que se considera el alto contenido bacteriano de las cepas BA 4-19, y BMR 2-4 (E+08 –E+10) (tabla 15).

Tabla 15

Cinética de crecimiento de cepas PGPRs sometidas a concentraciones de 1000 ppm de hierro a las 24, 48 y 72 h; las diferentes letras significan diferencias significativas a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey

		1000 ppm de Hierro		
		24 h	48 h	72 h
PM 3-8	UFC/ μ L	1,10E+07 B	1,87E+07 B	1,50E+07 A
BMR 2-12	UFC/ μ L	1,07E+08 A	1,07E+09 B	1,50E+06 A
R4	UFC/ μ L	1,20E+08 B	2,17E+08 B	1,50E+07 B
PB 3-6	UFC/ μ L	1,50E+05 B	1,50E+06 B	1,97E+08 A
BMR 2-2	UFC/ μ L	1,70E+08 A	1,73E+08 A	2,63E+09 A
PM 3-14	UFC/ μ L	1,04E+10 B	1,23E+07 A	1,11E+10 A
BO 3-4	UFC/ μ L	1,57E+07 B	1,63E+09 A	1,09E+10 A
BA 4-19	UFC/ μ L	3,17E+08 A	1,30E+10 A	6,77E+09 B
BMR 2-4	UFC/ μ L	1,53E+10 A	8,97E+09 A	1,50E+10 A
CHA0	UFC/ μ L	2,50E+09 A	1,57E+09 A	1,26E+10 A

Elaboración: Autora

4.1.6 Efecto de cepas PGPRs sometidas a 1500 ppm de hierro

El empleo de bacterias PGPRs en respuesta a concentraciones de 1500 ppm de hierro, indicó mejores respuestas del contenido UFC/ μL de las cepas BMR 2-2, PM 3-14, BA 4-19 y BMR 2-4; los cuales crecieron gradualmente en presencia de hierro. Mientras que R4 posee menos contenido bacteriano de $1,18\text{E}+06$, $1,50\text{E}+05$ y $1,50\text{E}+07$ a las 24, 48 y 72 h tabla 16.

Tabla 16

Cinética de crecimiento de cepas PGPRs sometidas a concentraciones de 1000 ppm de hierro a las 24, 48 y 72 h; las diferentes letras significan diferencias significativas a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey

		1500 ppm de Hierro		
		24 h	48 h	72 h
PM 3-8	UFC/ μL	9,53E+08 A	1,50E+08 B	1,63E+07 A
BMR 2-12	UFC/ μL	1,08E+08 A	1,04E+09 B	1,50E+06 A
R4	UFC/ μL	1,18E+06 C	1,50E+05 C	1,50E+07 B
PB 3-6	UFC/ μL	4,10E+05 B	3,33E+07 C	1,70E+08 AB
BMR 2-2	UFC/ μL	1,77E+08 A	1,57E+08 A	2,77E+09 A
PM 3-14	UFC/ μL	1,83E+10 A	1,10E+07 A	1,70E+09 B
BO 3-4	UFC/ μL	1,34E+07 B	1,83E+08 B	1,70E+09 B
BA 4-19	UFC/ μL	2,90E+08 B	1,53E+09 B	5,17E+09 C
BMR 2-4	UFC/ μL	1,01E+10 B	1,50E+09 B	1,42E+10 A
CHA0	UFC/ μL	2,53E+08 B	1,23E+07 B	1,77E+08 B

Elaboración. Autora

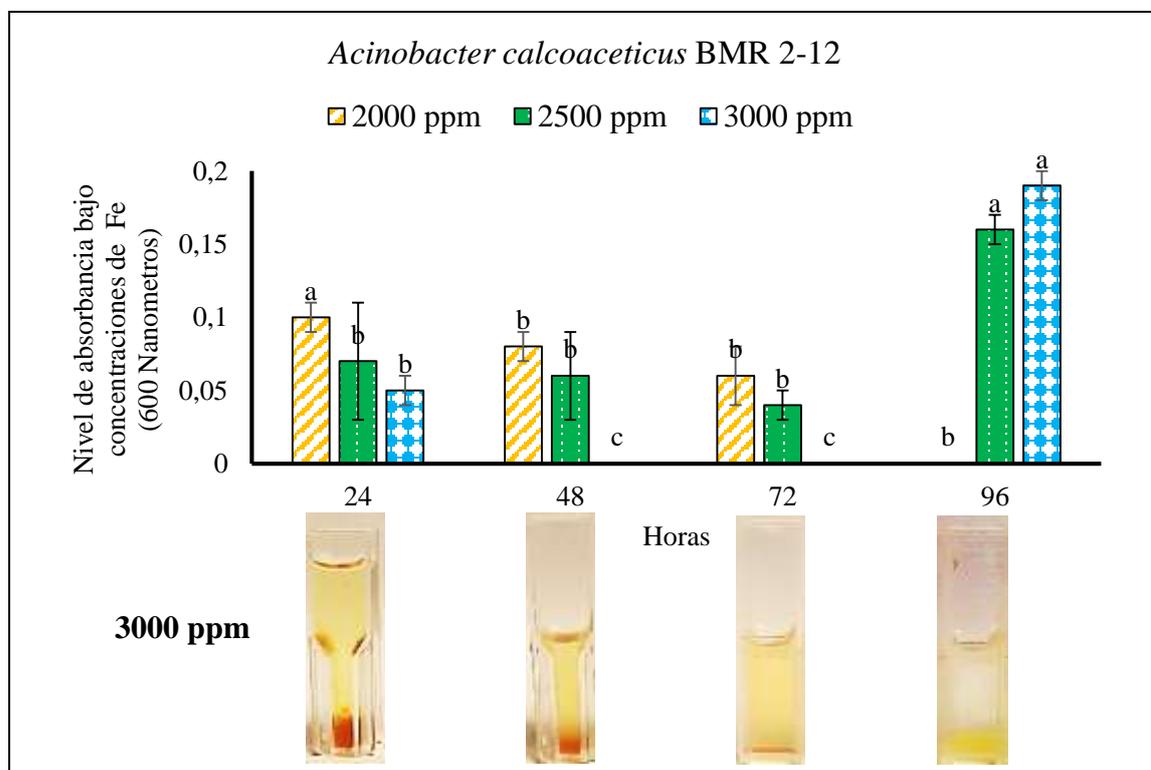
4.1.7 Selección de las bacterias con alto potencial biosolubilizadoras de hierro

4.1.7.1 Niveles de absorbancia bajo concentraciones de hierro de la cepa BMR 2-12

La cepa BMR 2-12 con alto potencial biosolubilizar logró reducir concentraciones de Hierro a 2000 ppm expresando niveles de absorbancia de 0.1, 0.08, 0.06 y 0 a las 24, 48, 72 y 96 h. De manera algo similar se presencié de las concentraciones de 2500 y 3000 ppm, en donde la cepa secuestró los iones de Hierro y absorbió exhibiendo niveles de 0.07, 0.06 y 0.04; 0.05, 0 y 0 durante las 24, 48 y 72 h; sin embargo, la bacteria soporto o infirió al efecto tóxico permitiendo revelar el aumento de valores a 0.16 (2500 ppm) y 0.19 (3000 ppm) a las 96 h figura 7.

Figura 7

Evaluación de la cepa BMR 2-12 a diferentes concentraciones de 2000 ppm, 2500 ppm y 3000 ppm de hierro; las barras indican los niveles de absorbancia (ABS). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey



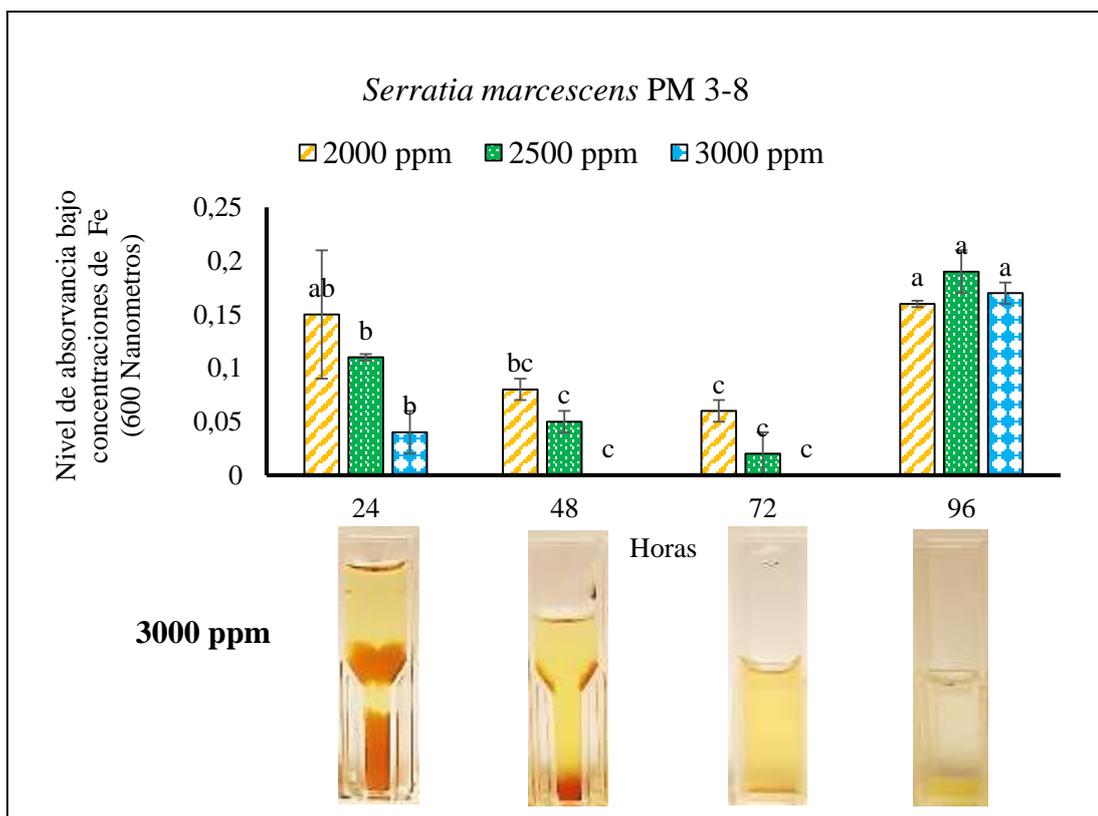
Elaboración. Autora

4.1.7.2 Niveles de absorbancia bajo concentraciones de hierro de la cepa PM 3-8

La cepa PM 3-8 revelo reducir concentraciones de 3000 ppm de Hierro hasta las 72 h, demostrando por medio espectrofotometría niveles de 0.04 (24 h), 0 (48 y 72 h), mientras que a las 96 h se evidenció aumento del contenido celular generando 0.17. De tal manera se efectuó en concentraciones de 2000 ppm y 2500 ppm de Hierro figura 8.

Figura 8

Evaluación de la cepa PM 3-8 a diferentes concentraciones de 2000 ppm, 2500 ppm y 3000 ppm de hierro; las barras indican los niveles de absorbancia (ABS). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey



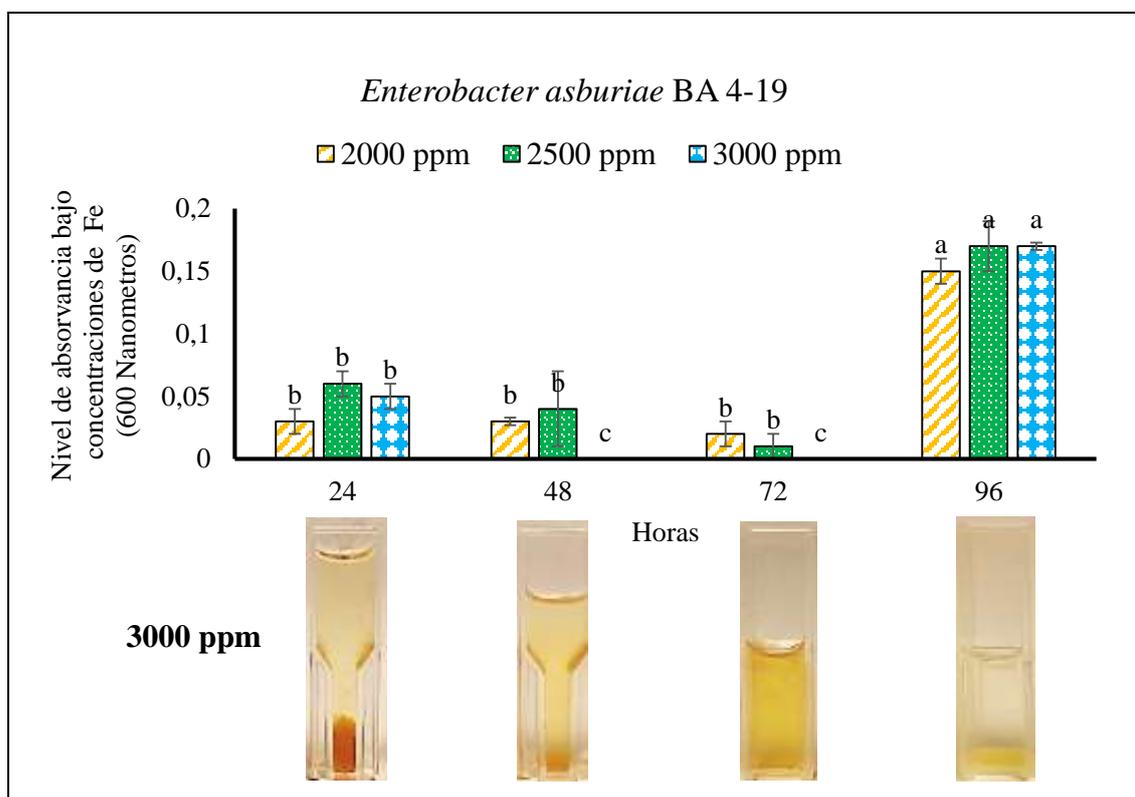
Elaboración: Autora

4.1.7.3 Niveles de absorbancia bajo concentraciones de hierro de la cepa BA 4-19

La cepa BA 4-19 demostró reducir concentraciones de 2000, 2500 y 3000 ppm de Hierro a expresando niveles de absorbancia de 0.03, 0.06 y 0.05 (24 h); 0.03, 0.04 y 0 (48 h); 0.02, 0.01 y 0 (72 h). Mientras que a las 96 h la bacteria aumentó los niveles a 0.15 (2000 ppm), 0.17 (2500 ppm) y 0.17 (3000 ppm) figura 9.

Figura 9

Evaluación de la cepa BA 4-19 a diferentes concentraciones de 2000 ppm, 2500 ppm y 3000 ppm de hierro; las barras indican los niveles de absorbancia (ABS). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey



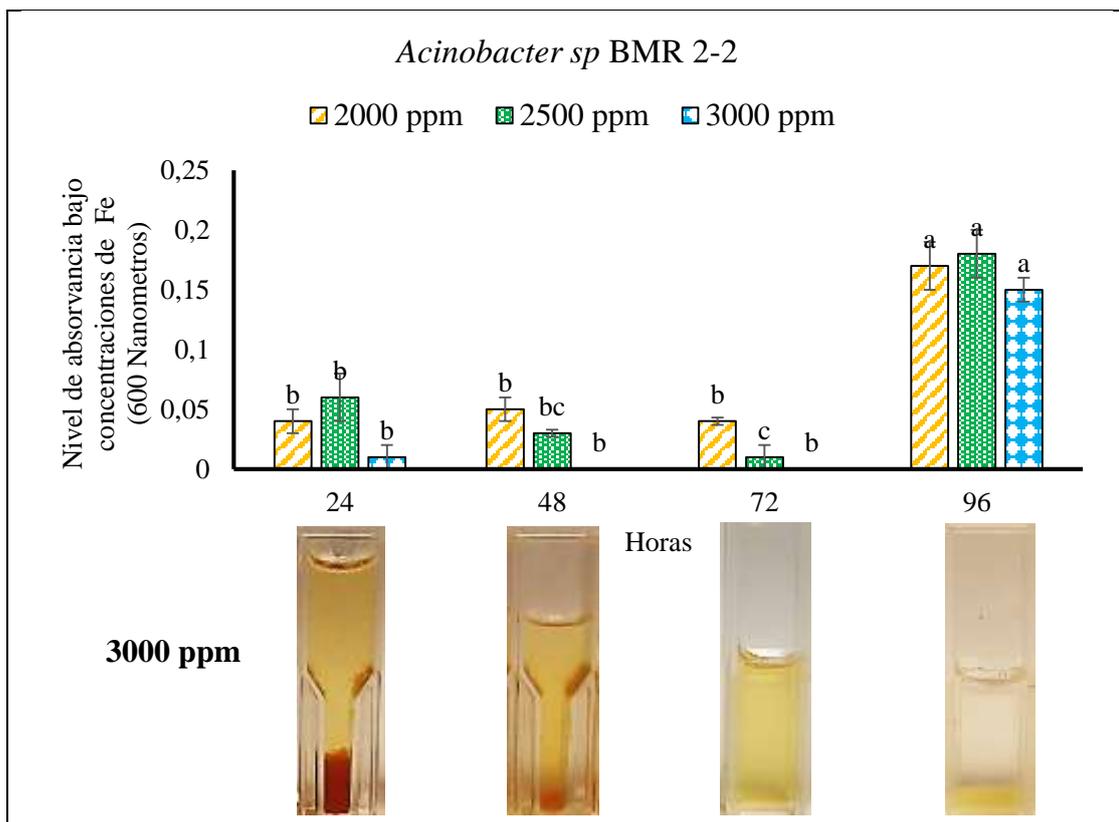
Elaboración: Autora

4.1.8 Niveles de absorbancia bajo concentraciones de hierro de la cepa BMR 2-2

La cepa BMR 2-2 demostró reducir concentraciones de 2000, 2500 y 3000 ppm de Hierro a expresando niveles de absorbancia de 0.04, 0.06 y 0.01 (24 h); 0.05, 0.03 y 0 (48 h); 0.04, 0.01 y 0 (72 h). Mientras que a las 96 h la bacteria aumentó los niveles a 0.17 (2000 ppm), 0.18 (2500 ppm) y 0.15 (3000 ppm) figura 10.

Figura 10

Evaluación de la cepa BMR 2-2 a diferentes concentraciones de 2000 ppm, 2500 ppm y 3000 ppm de hierro; las barras indican los niveles de absorbancia (ABS). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey.



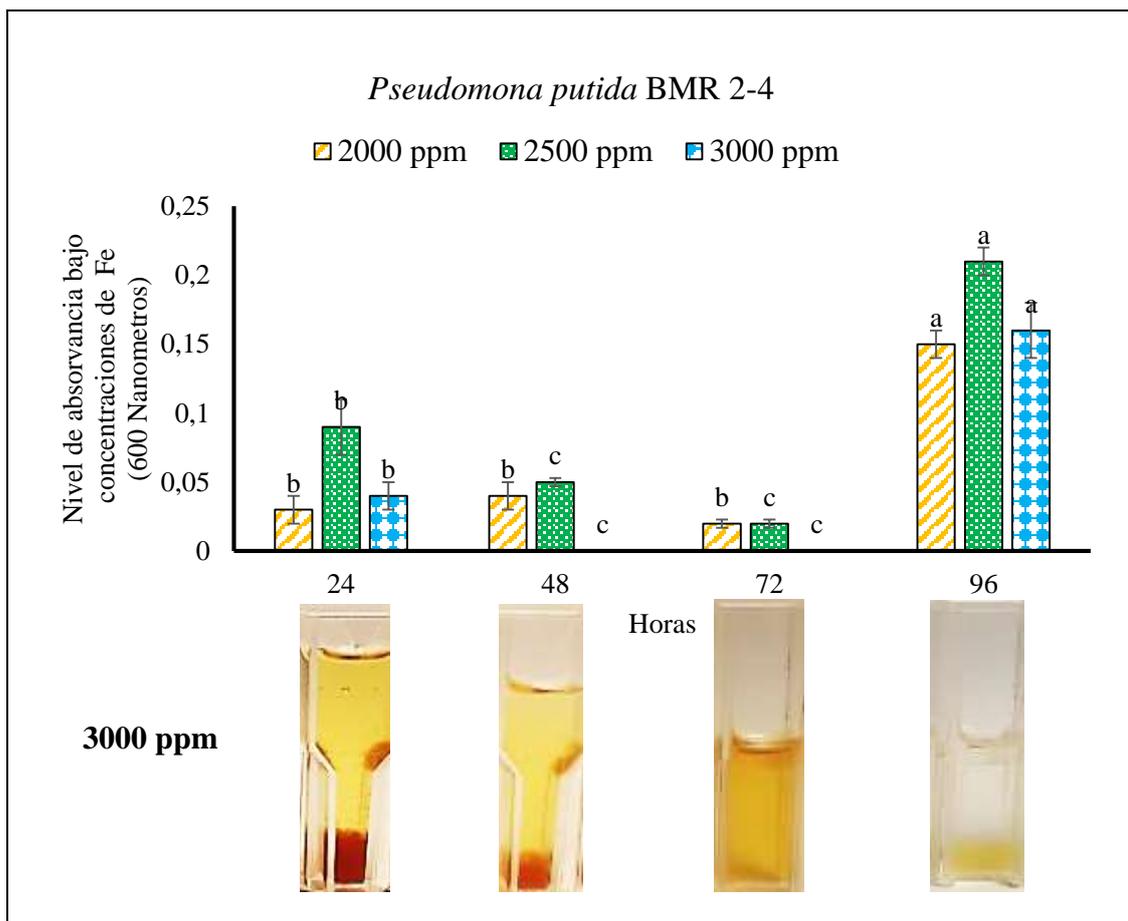
Elaboración: Autora

4.1.8.1 Niveles de absorbancia bajo concentraciones de hierro de la cepa BMR 2-4

La cepa BMR 2-4 demostró reducir concentraciones de 2000, 2500 y 3000 ppm de Hierro a expresando niveles de absorbancia de 0.03, 0.09 y 0.04 (24 h); 0.04, 0.05 y 0 (48 h); 0.02, 0.02 y 0 (72 h). Mientras que a las 96 h la bacteria aumentó los niveles a 0.15 (2000 ppm), 0.21 (2500 ppm) y 0.16 (3000 ppm) figura 11.

Figura 11

Evaluación de la cepa BMR 2-4 a diferentes concentraciones de 2000 ppm, 2500 ppm y 3000 ppm de hierro; las barras indican los niveles de absorbancia (ABS). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey



Elaboración: Autora

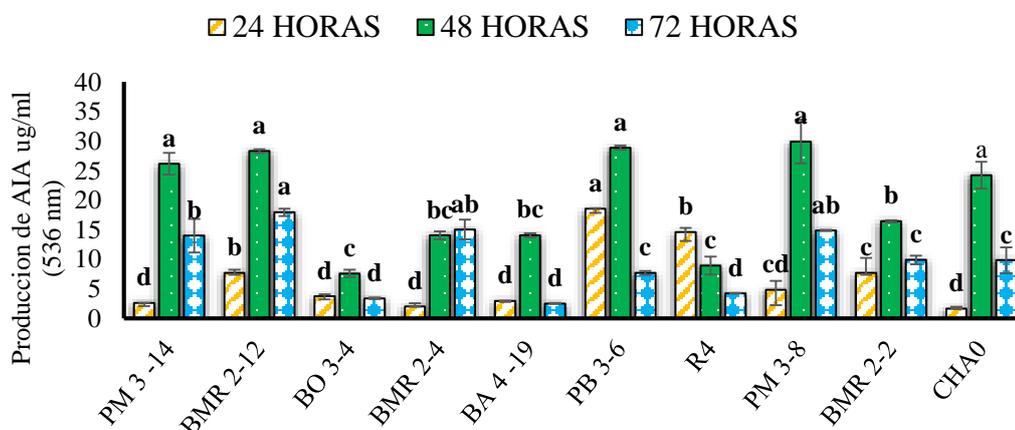
4.1.8.2 Producción de ácido indol acético de bacterias PGPRs

A las 24 h se determinó la producción de ácido indol acético de las cepas PGPRs, en donde la cepa PB3-6 con mayor producción de AIA de 18.55 ug/mL^{-1} y la cepa R4 con 14.64 ug/ml^{-1} , mientras que las cepas CHA0 y BMR 2-4 no promovieron en la ruta primaria a la síntesis de AIA con valores de 1.66 y 2.05 ug/ml^{-1} figura 12. A las 48 h se determinó la producción de ácido indol acético, en donde las cepas BMR 2-2, PB 3-6 y BMR 2-12 promovieron mayor producción de 29.92 , 28.90 y 28.33 ug/ml^{-1} , mientras que se identificó menor contenido de AIA de las cepas BO 3-4 y R4 con valores de 7.61 y 8.95 ug/ml^{-1} figura 12.

A las 72 h se determinó la capacidad de las cepas en inferir con los procesos de incorporación de auxina evidenciando a las bacterias BMR 2-12, BMR 2-4, PM 3-8 y PM 3-14 mayor producción de ácido indol acético con cifras de 17.94 , 15.05 , 14.89 y 14.01 ug/ml^{-1} ; mientras que cepas R4, BO 3-4 y BA 4-19 presentan poca influencia expresando valores de 4.26 , 3.39 y 2.54 ug/ml^{-1} figura 12.

Figura 12

Producción de ácido indol acético de las cepas PGPRs durante las 24, 48 y 72 h. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey

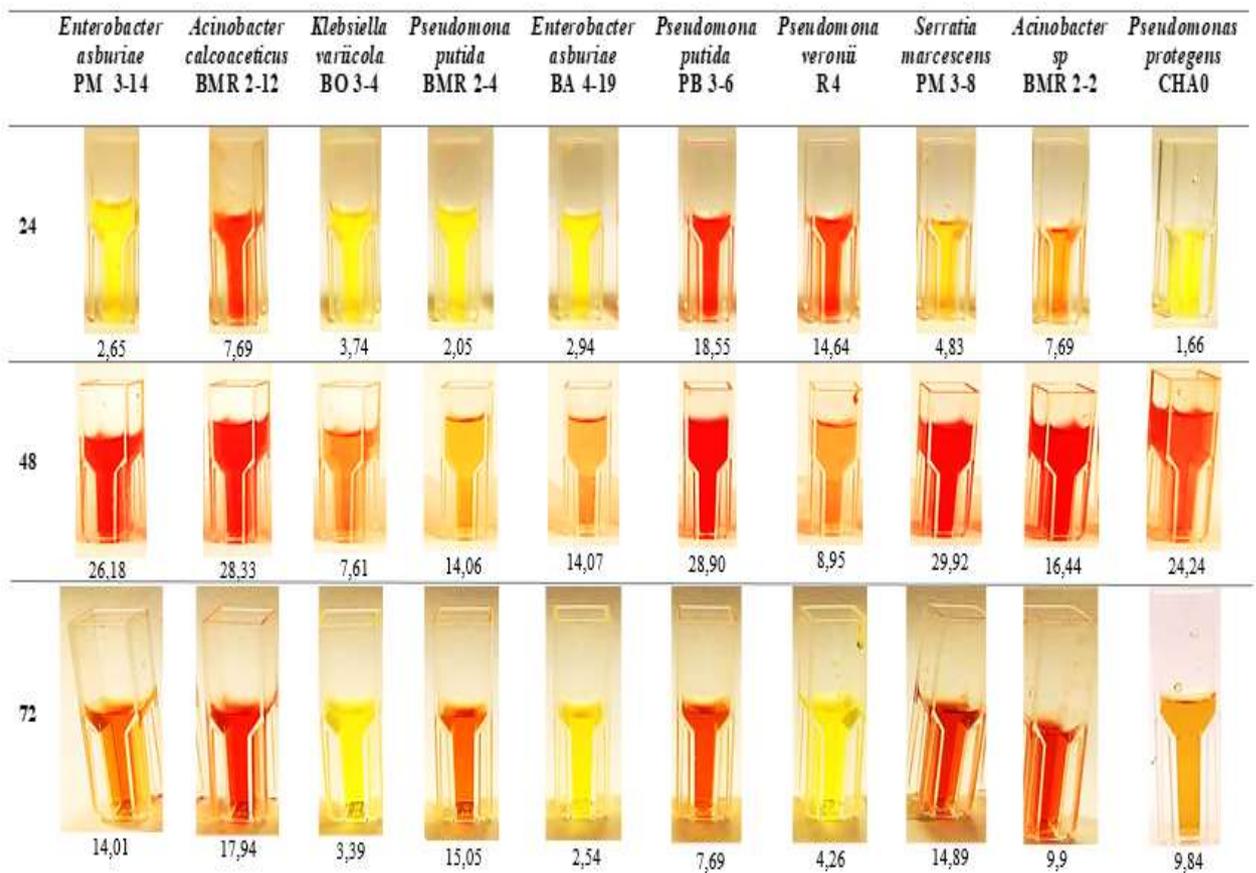


Elaboración. Autora

Durante el periodo de evaluación se identificó que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal poseen la capacidad de intervenir en las rutas metabólicas en presencia de triptófano, en donde la cepa PB 3-6 promovió mayor producción de AIA con 18.55, 28.90 y 7.69 $\mu\text{g/ml}^{-1}$, mientras que la cepa BO 3-4 presentó producciones de AIA más bajas con valores de 3.74, 7.61 y 3.39 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ figura 13, Las muestras indican promedio y tres tonalidades, amarilla (Poca producción), naranja (Media producción) y roja (Alta producción)

Figura 13

Ensayo de producción ácido indolacético de las cepas durante las 24, 48 y 72 h



Elaboración: Autora

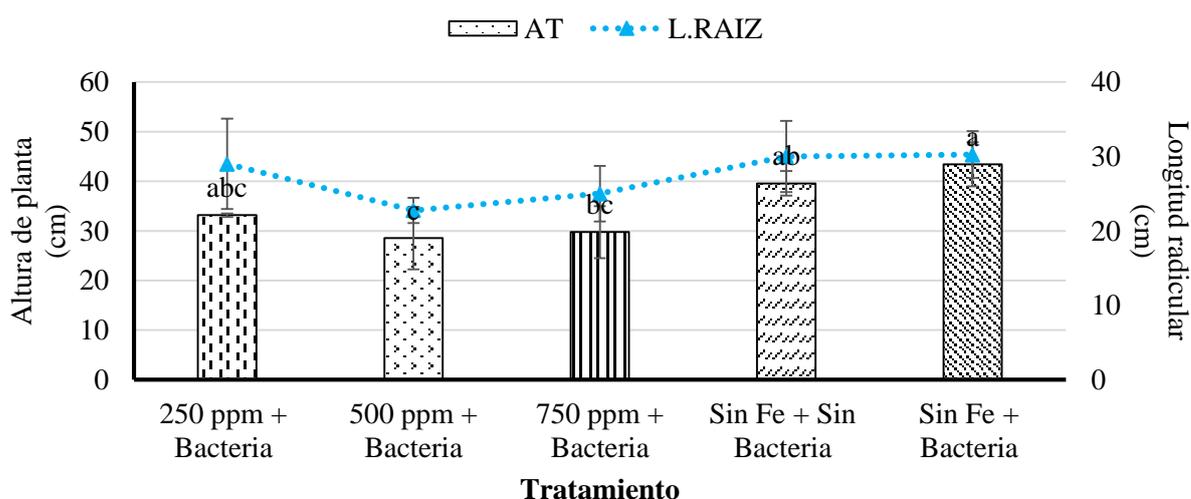
4.1.8.3 Altura de la planta y longitud radicular

Se determinó mediante el muestreo de 12 plantas por tratamiento, se identificó con mayor promedio sobre la altura de la planta al tratamiento 5 (Sin Fe +Bacteria) con 43.42 cm, mientras que las medias más bajas se obtuvieron de los tratamientos 2 (500 ppm + Bacteria) y 3 (750 ppm + Bacteria) con cifras de 28.58 y 29.75 cm; efecto que puede estar asociado a elevadas cargas de Hierro/100 g de suelo seco figura 14.

Mediante un muestreo destructivo de 12 plantas por tratamiento se evaluó la elongación radicular, en donde los tratamientos 1 (250ppm +Bacteria), 4 (Sin Fe +Sin Bacteria) y 5 (Sin Fe +Bacteria) expresaron valores de 29, 30 y 30.25 cm; mientras que el empleo en concentraciones de 500 ppm de Hierro + Bacteria (Tratamiento 12) demostró cifras inferiores de 22.75 cm, figura 14.

Figura 14

Altura de la planta y longitud radicular; tratamiento 1 (250 ppm + Bacteria), tratamiento 2 (500 ppm +Bacteria), tratamiento 3 (750 ppm +Bacteria), tratamiento 4 (Sin Fe + Sin Bacteria) y tratamiento 5 (Sin Fe + Bacteria). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey

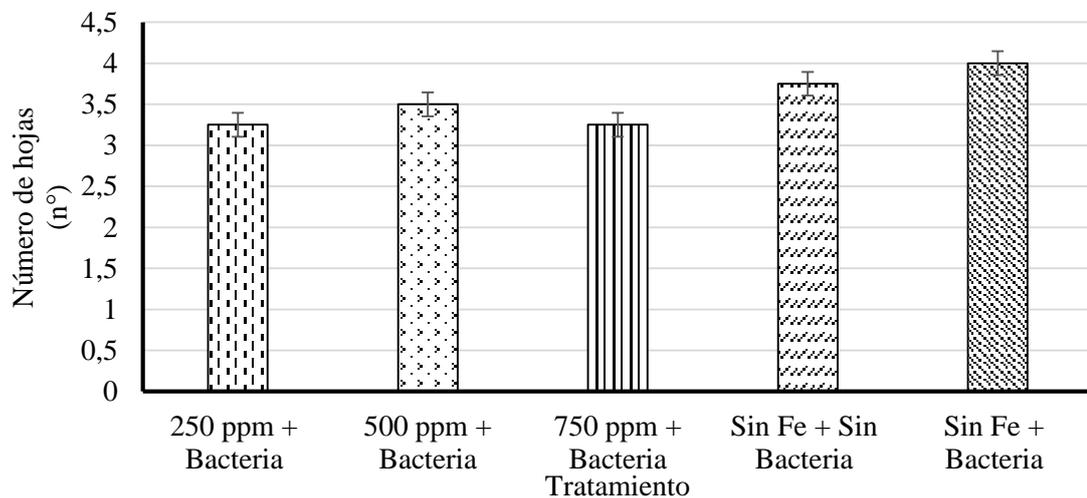


Elaboración. Autora

Se contó el número de hojas presente de 12 plantas por cada tratamiento, en donde se identificó una leve diferencia en la presencia de hojas, no obstante, el tratamiento 5 (Sin Fe + Bacteria) se puntuó con valores de 4 n°, mientras que los tratamientos 1 (250 ppm +Bacteria) y 2 (500 ppm + Bacteria) presentaron igualdad en el número de hojas 3.25 n° figura 15.

Figura 15

Número de hojas, tratamiento 1 (250 ppm + Bacteria), tratamiento 2 (500 ppm +Bacteria), tratamiento 3 (750 ppm +Bacteria), tratamiento 4 (Sin Fe + Sin Bacteria) y tratamiento 5 (Sin Fe + Bacteria). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey



Elaboración: Autora

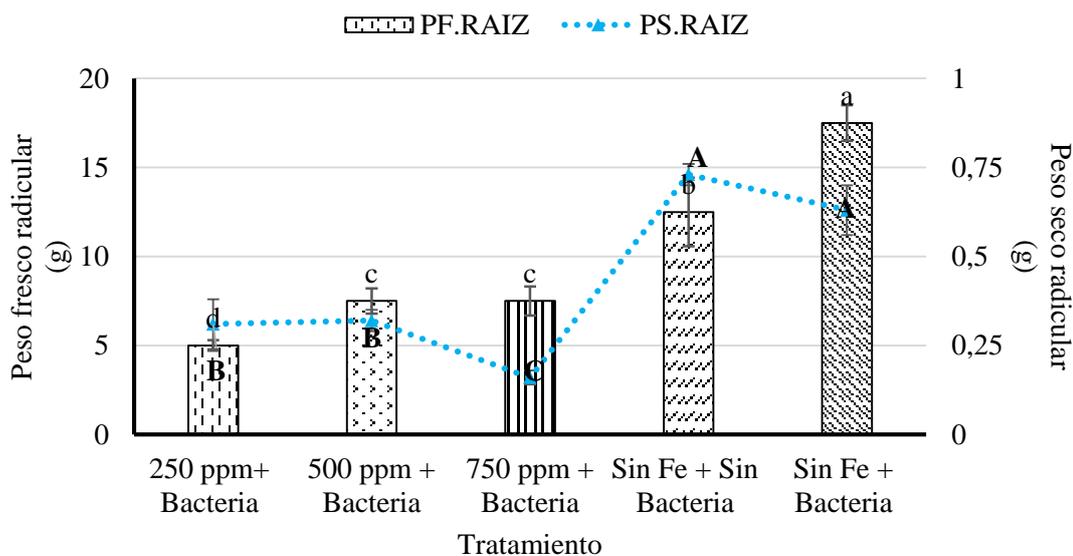
4.1.8.4 Peso fresco y seco del sistema radicular

El empleo de bacterias PGPRs induce al aumento del peso radicular de tal manera se determinó del tratamiento 5 (Sin Fe + Bacteria) con valores de 17.5 g indicando superioridad ante los demás tratamientos, en lo que el tratamiento 1 (250 ppm +Bacteria) demostró las cifras más bajas con 5 g figura 16.

Se determinó mayor peso seco del sistema radicular del tratamiento 5 (Sin Fe +Sin Bacteria) presentando valores de 0.73 g, mientras que el tratamiento 3 (750 ppm +bacteria) obtuvo cifras de 0.16, en donde la presencia del Hierro genera menos contenido orgánico y agua en las plántulas de arroz figura 16.

Figura 16

Peso fresco y seco del sistema radicular, tratamiento 1 (250 ppm + Bacteria), tratamiento 2 (500 ppm + Bacteria), tratamiento 3 (750 ppm + Bacteria), tratamiento 4 (Sin Fe + Sin Bacteria) y tratamiento 5 (Sin Fe + Bacteria). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey



Elaboración. Autora

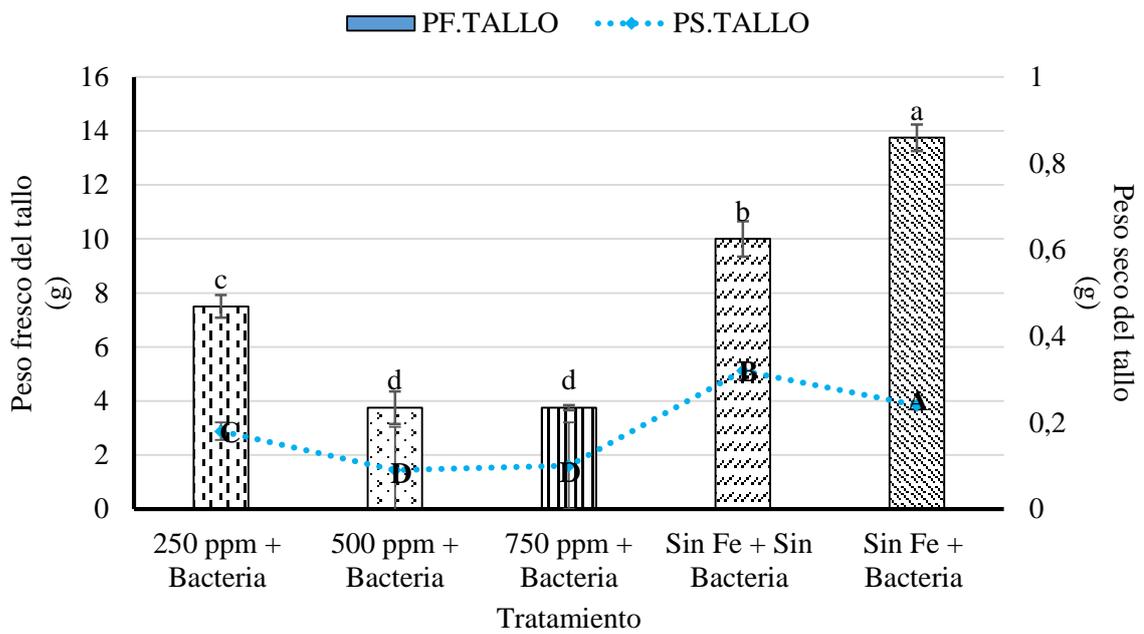
4.1.8.5 Peso fresco y seco del tallo

Mediante el muestreo destructivo de 12 plantas por cada tratamiento se determinó el peso del tallo, en donde el tratamiento 5 (Sin Fe + Bacteria) pesó 13.75 g indicando un mayor promedio ante los demás tratamientos, en cambio los tratamientos 3 (500 ppm + Bacteria) y 4 (750 ppm + Bacteria) revelaron cifras mínimas de 3.75 g figura 17.

Las plántulas de tratamiento 5 (Sin Fe + Sin Bacteria) demostró mayor peso seco del tallo, revelando valores de 0.32 g, mientras que los tratamientos 2 (500 ppm + bacteria) y 3 (750 ppm + bacteria) pesaron 0.09 y 0.1 g. En donde la presencia del Hierro genera menos contenido orgánico y agua en las plántulas de arroz figura 17.

Figura 17

Peso fresco y seco del tallo, tratamiento 1 (250 ppm + Bacteria), tratamiento 2 (500 ppm +Bacteria), tratamiento 3 (750 ppm +Bacteria), tratamiento 4 (Sin Fe + Sin Bacteria) y tratamiento 5 (Sin Fe + Bacteria). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a $p < 0.05$, analizados por el test de Tukey



Elaboración. Autora

4.2 Discusión

La formación de biopelículas genera anillos en la superficie del medio acuoso, en donde las cepas promovieron en grandes o pequeñas cantidades de exopolisacáridos, lo cual es muy característico de bacterias Gramnegativas; compuesto que maximiza la colonización en las raíces de acuerdo a Berg (44).

La producción de EPS a gran cantidad induce a la formación de dobles anillos, tal como se obtuvo de las cepas BO 3-4 y PM 3-8, determinando que dichas bacterias presentan mayor sustancia como proteínas, metabolitos secundarios, ácidos orgánicos y péptidos; compuestos influyentes a la expresión génica estudio obtenido por Branda *et al.* (45), además estas células se encuentran embebidas en una matriz proteica, impulsando a la producción de proteínas TasA y BslA (Proteínas necesarias a la polimerización de fibras de almidón) obtenido por Vlamakis (46).

La mayoría de las cepas empleadas promovieron a la formación de EPS, se constató una baja producción, sin embargo, genera *quorum sensing* (QS) según Bonilla (48). *Bacillus* son muy versátiles a la producción de sustancias lipopeptídicas manifiestan Zhang *et al.* (49), colonización de raíces para Bais *et al.* (50), por otra parte, la mutación de estos genes repercute la capacidad de colonizar afirma Brear *et al.* (51).

Las propiedades halófilas de las cepas a la solubilización de Potasio, demostraron poseer alto grado en disolver el K, en donde PM 3-8 8 presentó un mayor solubilización, realizando una circunferencia alrededor de la colonia celular para Wang *et al.* (40), exhibiendo porcentaje de 23.44, 26.68 y 89.99 % a las 24, 48 y 72 h. Esto demuestra que las cepas implican varios mecanismos que involucran ácidos orgánicos, succínico, cítrico, glucónico, α -cetoglucónico y oxálico datos obtenidos de Archana *et al.* (39).

El conjunto de cepas gramnegativas empleadas en la evaluación inducen el crecimiento celular sobre composiciones inorgánicas, permitiendo reducir y disponer cargar

minerales a la planta. Investigaciones realizadas por Basak *et al.* & Singh *et al.* (41, 42), reportan que *Bacillus mucilaginosus*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Pseudomonas spp.*, *Burkholderia spp* *Enterobacter hormaechei* y *Arthrobacter sp.* Por otra parte, López *et al.* (43) en la evaluación levaduras a la solubilización de potasio, en donde determinaron por la presencia de ácidos orgánicos revelan índices de solubilización de 10.3 y 9.0 de cepas GRB-LB05 y GRB-LB13.

La mayoría de las cepas promovieron la extensión del halo sobre el medio de cultivo, en donde solubilizaban gradualmente el fósforo presente, por ello la cepa BMR 2-12 genero mayor solubilización durante el periodo evaluado, poseyendo grandes características de bacterias Gramnegativas en solubilizar el fosfato por medio de oxidación directa de glucosa a ácido glucónico manifiesta Goldstein (35).

La habilidad de las bacterias PGPRs promueven gradualmente la reducción de fósforo, por efecto de la pirroloquinolina quinona (PQQ) que actúa como cofactor redox al proceso de la solubilización del fosfato confirma Rodríguez (36). La cepa BMR 2-2 desarrolló su formación colonial, sin embargo, se efectuó como bacteria sin propiedades halófilas. Según Seshachala *et al.* (37) menciona que los ácidos orgánicos e iones carboxílicos reducen el pH con objeto de liberar el fósforo, en donde estas reacciones generadas por la bacteria influyen sobre la acidificación de las células microbiana manifiesta Goldstein (38).

Se ha denominado a la mayoría de las cepas PGPRs como productoras de ureasa, de hecho, en este caso no siempre se expresa dicha enzima que cataliza la urea (Nitrógeno), mediante el ensayo en la producción de ureasa, *Acinetobacter sp* BMR 2-2 reveló porcentajes de 43.27, 33.4 y 37.55 % a las 24, 48 y 72 h. De tal manera mencionan Achal *et al.* (31) en donde sostienen que varios géneros de bacterias aeróbicas poseen la capacidad de producir dicha enzima tales como: *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas* y *Enterobacter*. Cabe mencionar que la investigación realizada por Mekonnen. (33) determinó la caracterización de bacterias del suelo productoras de ureasa, indicando que bacterias del género *Bacillus*, *Citrobacter* y *Enterobacter* poseen la capacidad ureolíticas.

Cepas PGPRs cultivadas a diferentes concentraciones de hierro indujeron al crecimiento bacteriano y se autorregularon ante un ambiente férrico, captándolo por medio de compuestos de bajo peso molecular (Sideróforos) y unirse al hierro insoluble, con objeto de facilitar el transporte al interior de la célula según Bonilla *et al.* (48), necesario para síntesis de nitrogenasas, citocromos, ferredoxinas e hidrogenasas afirma Aguado *et al.* (52). Comúnmente la captación de hierro involucra la actividad ferreductasa que reduce Fe^{3+} a Fe^{2+} según Neilands (53).

Dependiente al metabolismo celular se obtendrá mayor efecto quelante y a su vez al aumento de comunidades bacterianas, por ello las cepas BO 3-4, BMR 2-4 y CHA0 demostraron poseer alto potencial en tolerar diferentes concentraciones de Hierro, identificando a las 72 h cargas UFC/uL de 1,15E+10, 9,23E+09 y 1,38E+10 (500 ppm); 1,09E+10, 1,50E+10 y 1,26E+10 (1000 ppm); 1,70E+09, 1,42E+10 y 1,77E+08 (1500 ppm). De tal manera capta el hierro *Clostridium perfringens* crea y crece alrededor un microambiente de pH más ácido (54). Así mismo *Pseudomonas mendocina*, capaz de proliferar en medio con hematita ($\alpha-Fe_2O_3$) como única fuente de hierro menciona Crowley *et al.* (55).

El nivel de absorción y crecimiento de cepas BMR 2-12, R4, BMR 2-2, PM 3-14, BA 4-19 revelaron mayor unión al hierro desde concentraciones de 1000 y 1500 ppm, demostrando secretar complejos sideróforos desde las 24 h, en objeto de secuestrar y requerirlo para su respiración celular, esta afinidad de disociación oscila entre 10^{22} y 10^{55} según afirma Dehner *et al.* (54), condiciones que incrementan en limitativas de hierro (Ratledge y Dover, 2000; Clark, 2004) en lo que mejora a la nutrición vegetal afirma también Althaus *et al.* (56).

Las PGPRs estudiadas generan un ligamiento de ácidos que ejercen un sinfín de complejos intracelulares o extracelulares, de hecho, cepas: PB 3-6, R4, CHA0 y BMR 2-4 producen sideróforos tipo hidroximato, que se encuentran la ferricatina y pseudobactina afirma Aguado *et al.* (52). Por otra parte, al crecimiento bacteriano debe adaptarse al ambiente y nutriente, en lo que conlleva acomodar su metabolismo, para así crecer exponencialmente mientras consume los nutrientes del medio.

Afrima Aguado *et al.* (52) El aporte de altas concentraciones de hierro a 3000 ppm provocó reacciones metabólicas a los microorganismos, los cuales a las 24 h permanecían en fase de adaptación del medio férrico, en donde redujeron el mineral entre las 48 y 72 h, para luego explotar sus diversos puntos de crecimiento logarítmicos a las 96 h. De este modo, se obtuvo de las cepas BMR 2-12, PM 3-8, BA 4-19, BMR 2-2 y BMR 2-4 niveles de absorbancia de 0.19, 0.17, 0.17, 0.15 y 0.16 (96 h); que se puede indicar al aumento de poblaciones microbiana, secreción de proteínas, metabolitos y complejos sideróforos.

Según Aguado *et al.* (52) los microorganismos secretan diferentes sideróforos, el cual está ligado al ácido hidroxámico, catecol, correspondiente al grupo funcional de clasifican en fenolatos, hidroximatos e hidroxicarboxilatos, los cuales forman complejos octaédricos hexadentados con el metal. Además, sustenta que depende del hierro a la reacción metabólica, en donde altas concentraciones en el medio las proteínas bacterianas reprimen la expresión de complejos sideróforos, mientras que bajas concentraciones se activa la transcripción de los genes involucrados en la síntesis de sideróforos. De hecho, este proceso transcripcional depende de altos niveles de adenina y timina, que usualmente es regulado por el represor Fur (ferric uptake regulator) y una metalproteína de zinc para Moeck *et al.* (57), por ello secuestran y solubilizan el hierro del ambiente extracelular, siendo reconocidos por receptores específicos afirma Dehner *et al.* (54).

El acoplamiento de las cepas sometidas a 2000, 2500 y 3000 ppm de Hierro permite un periodo corto de reconcomiendo de solutos férricos, sin estar comprometidas a la muerte celular ante altas exposiciones minerales, dado que la membrana externa es una barrera permeable protectora de toxinas confirma Aguado *et al.* (52), en donde la presencia de porinas como filtros permite la disociación, permitiendo una máxima eficiencia de internalización a concentraciones muy bajas también es Đorđević *et al.*(58).

Se obtuvo respuestas positivas a la producción de AIA, en donde se comprueba que las cepas empleadas poseen la capacidad de sintetizar ácido indol acético, representando la cepa PB 3-6 con mayor producción de 18.55, 28.90 y 7.69 ug/ml⁻¹. Por ello, la prueba de detección de compuestos indólicos al metabolismo microbiano requiere triptófano como precursor a la producción de ácido indol-3-acético (PGPR). *A. chroococcum* produce 7.55

ug/ml⁻¹ (59), *Azospirillum brasilense* y *Herbaspirillum seropedicae* de raíces de *Cenchrus clandestinus* con 67 y 37 ug/ml⁻¹ (60), *Azospirillum spp.* aisladas de *Zea mays* con 4 y 35 ug/ml⁻¹, además *Pseudomonas* y *Bacillus* (Sin valores revelados) según Atiyeh *et al.* (61).

Las producciones de las cepas produjeron grandes resultados positivo como biosintetizadoras de AIA, en donde bacterias como *Bacillus sp.*, *B. subtilis*, *P. putida*, *P. fluorescens* y *Enterobacter sp.*, revelan grandes características de sintetizar dicho moléculas afirman De la Cruz *et al.* & Moreno *et al.* (62; 63). De tal modo se menciona Camelo *et al.* (64) a las cepas *Azotobacter sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium sp.*, *Sinorhizobium meliloti.* y *Klebsiella sp.*

El efecto promotor de las cepas bacterianas permitió mayor promedio sobre los parámetros evaluados, en donde el tratamiento 5 (Sin hierro + Bacteria) generó valores de 43.42 cm (Altura de planta), 4 n° (Número de hojas), 30.25 cm (Longitud radicular), 17.5 g (peso radicular) y 13.75 cm (Longitud radicular).

El efecto producido por las rizobacterias es atraído por sustancias excretadas por la raíz y forman una relación de beneficio mutuo según afirma Weert *et al.* (65), de hecho, la cepa *P. fluorescens* WCS365, presenta alta capacidad de colonizar raíces en el cultivo de tomate para Ahmad *et al.* (66), al igual de *Azospirillum*, *Rhodospirillum* y *Vibrio*, presentan mecanismo dual de motilidad al movimiento independiente del tamaño celular según afirma Weert *et al.* (65), en donde las carreras prolongadas es obtenido gracias a los quimioatrayentes, en conclusión las bacterias alteran el desarrollo vegetal según Antoun *et al.* (67).

Los tratamientos con diferentes concentraciones de hierro influyen mayor aumento para diverso áreas vegetales, en donde se comprobó que el predominio del tratamiento 1 (250 ppm + bacteria) permitió obtener mayor altura de la planta con 33.17 cm y longitud radicular (29 cm), efecto que puede estar asociado a la reducción del hierro por las cepas empleadas, por su amplia colonización manifiesta Cassán *et al.* (68). Mayormente las interacciones

positivas han incrementado la germinación, elongación radicular, sadul vegetal, crecimiento del tallo, absorción de nutrientes, etc recomienda Schmidt *et al.* (69).

Mientras que los tratamientos 2 (500 ppm + bacteria) y 3 (750 ppm + bacteria) influyeron al peso radicular con valores similares de 7.5. Este efecto obtenido puede estar asociado a dos estrategias solubilizadoras de hierro: I) Altas concentraciones de hierro se adhieren con fuerza a las raíces y sin efecto de quelante, las rizobacterias producen compuestos sideróforos, en donde las plantas utilizan el hierro soluble para Takagi *et al.* (70). II) Plantas fitosideróforos, por lo que plantas de arroz liberan estos complejos a la solubilización de Fe, pero en bajas cantidades afirma Nomoto *et al.* (71), identificando estructuras químicas como: ácido mugénico, ácido avénico, ácido 3-hidroximugénico.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- ✓ La cepa PB 3-6 promueve mayor producción de ácido indol acético (28.90 ug/ml^{-1}), mientras que ureasa, la cepa BMR 2-2 induce mayor porcentaje (43.24 %) y a la vez la bacteria BMR 2-12 solubiliza fósforo (25.93 %); el potencial halófilo de la cepa PM 3-8 induce capacidades de solubilizar potasio (89.99 %) y además genera exopolisacáridos.

- ✓ La tolerancia de las cepas PGPRs en concentraciones de 500, 1000 y 1500 ppm de hierro, indico que la mayoría de cepas aumentan su contenido celular en medio férrico, en donde se obtuvo mayor cinética de las cepas BMR 2-12, PM 3-8, BA 4-19, BMR 2-2 y BMR 2-4. Mientras que al aumento de concentraciones (2000, 2500 y 3000 ppm) con objeto de evaluar el punto límite de tolerancia de las cepas mencionada, se determinó mediante los niveles de absorbancia que captan el hierro en un periodo de 72 a 96 h.

- ✓ El empleo de bacterias PGPRs incita al desarrollo morfológico y fisiológico de la planta, en donde el tratamiento 5 (Sin hierro + Bacteria) promovió la altura de la planta (43.42 cm), longitud radicular (30.25 cm, peso radicular (17.5 g) y peso del tallo (13.75 g); mientras que, a la presencia de hierro (250, 500 y 750 ppm), las bacterias indujeron valores casi similares en diferentes parámetros.

5.2 Recomendaciones

- ✓ De los resultados en la investigación permiten recomendar que la evaluación de la eficiencia de las PGPRs como productoras de AIA deberían investigarse a nivel de campo para constatar su eficiencia debido a las variaciones climáticas y tipos de suelos.

- ✓ Continuar la investigación para determinar la curva de crecimiento y niveles de absorción al aumento de mayores concentraciones de hierro, ya que la concentración aplicada en esta investigación presento datos que aumentan constantemente sin saber el límite de asimilación de las bacterias.

- ✓ Determinar los efectos que causan los sideróforos y compuestos quimioatrayentes producidos por las PGPRs ante la presencia de altas concentraciones de hierro *in vitro*, por lo que las raíces de las plántulas de arroz reprimen un desarrollo a la presencia de hierro, mientras que la producción de compuestos complejos promovidos por rizobacterias suprimen la toxicidad del metal.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA

6.1 Bibliografía

1. Dobermann y Thomas Fairhurst A. Toxicidad de hierro en arroz. s.f. 2000; 3-6.
2. Narovis Rives ya y. ah. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). perspectivas de su uso en cuba. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193217731004>. 2007; 28 (s.f.):29–38.
3. Ángela Ruiz Carnicer FR-R y. HM. Elaboración de un producto biofertilizantes y biocontrol con bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPRs) del género *Azospirillum* [Internet]. abril de 2013. Available from: <https://www.upo.es/revistas/index.php/biosaia/article/view/611/445>
4. Ahmed E, Holmström S. Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microbial Biotechnology*. 2014 Feb 27; 196–208.
5. Howeler R. Howeler Anaranjamiento y Toxicidad de Hierro en Arroz de Riego en los Llanos Orientales de Colombia- 1974. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 2018 May; 49–50.
6. Arregui Silvavela JD. Efecto de niveles de hierro sobre dos variedades de arroz en dos condiciones hídricas. [Honduras]: Zamorano; Agosto, 1998.
7. Ochoa A, Patricia S, Castro C, Fernando F. Dinámica del hierro en el sistema suelo-planta. [Quito - Ecuador]: universidad central del ecuador facultad de ciencias agrícolas; 2014.
8. Valdivia Vargas SR. Efecto de la fertilización nitrogenada y aplicación de carbonato de calcio sobre la toxicidad de hierro y manganeso en plantas de lentejas (*Lens culinaris* Medik). [talca-chile]: universidad de talca; 2020.
9. Almaraz, J. J., Ferrera, R., Alcántar, G., Díaz, P., Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra Latinoamericana* [Internet]. 2001; 19(4):327-335. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57319405>
10. Díaz Vargas, P., Ferrera Cerrato, R., Almaraz Suárez, J. J., Alcántar González, G., Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra Latinoamericana* [Internet]. 2001; 19(4):327-335. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57319405>
11. Agrios G. Fitopatología. Vol. 1 edición. México: Limusa; 1991.

12. Vico S. Factores abióticos que afectan la biosíntesis de ácido indolacético en bacterias endófitas de maíz. [Uruguay - Montevideo]: Universidad de la República Uruguay; 2017.
13. Alcívar Severino JC. Caracterización bioquímica de exopolisacáridos producidos a partir de una asociación microalgales. [Guayaquil]: Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil; Junio, 2020.
14. Náchter Vázquez, M., López, I. I., Notararigo, s., Fernández, p., Fernández, p., Aznar Novella, r. & Rivera, V. Aplicaciones de los exopolisacáridos producidos por bacterias lácticas en la calidad y funcionalidad de los alimentos. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. 2012; 1–18.
15. Andaluz Gil S. Estudio de los cambios inducidos por la deficiencia de hierro en el proteoma de plantas. [Zaragoza]: Universidad de Zaragoza Departamento de bioquímica, biología molecular y celular; Julio de 2005.
16. Aguado-Santacruz Gerardo A., Moreno-Gómez Blanca, Jiménez-Francisco Betzaida, García-Moya Edmundo, Preciado-Ortiz Ricardo E. Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. Rev. fitotec. mex [revista en la Internet]. 2012 Mar [citado 2022 Ene 13]; 35(1): 9-21. Disponible en:http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000100004&lng=es.
17. Acevedo-Sandoval, Otilio, Ortiz-Hernández, Enrique, Cruz-Sánchez, Misael, Cruz-Chávez, Enrique, El papel de óxidos de hierro en suelos. Terra Latinoamericana [Internet]. 2004; 22(4):485-497. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57311096013>
18. Mengel K, Kirkby E. Principios de Nutrición vegetal. Basilea - Suiza: International PotashInstitute; 2000.
19. Villarreal-Delgado MF, Villa-Rodríguez E, Cira-Chávez LA, Estrada-Alvarado MI, Parra- Cota FI, De los Santos-Villalobos S. The genus Bacillus as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. Mexicana de fitopatología 36 (1). 2017; 95–130.
20. Caballero Mellado J. Microbiología agrícola e interacciones microbianas con plantas. Revista Latinoamericana de microbiología. Junio de 2006; 48 N. 2(Presentación en simposios):154–61.

21. Segura Pachón D. Aislamiento e identificación de bacterias ferro oxidantes y sulfuro oxidantes del área minera de Riotinto. [Sevilla]: Departamento de microbiología Universidad de Sevilla; Abril de 1998.
22. Cano Ma. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: micorrizas, trichoderma spp. y pseudomonas spp. una revisión [internet]. 2011. available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v14n2/v14n2a03.pdf>
23. Bartha R, Ronald M. Atlas. Interacciones entre microorganismos y plantas [Internet]. España: Ronald Atlas; 2001. Available from: http://biblio3.url.edu.gt/publiclg/biblio_sin_paredes/fac_ingenieria/eco_microb/cap/04.pdf
24. Benavides Mendoza A. Absorción y asimilación de hierro en las plantas. Research Gate. Julio de 1999; 1–18.
25. Granados Thorin, N Evaluación de efectividad de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en la variedad de arroz F67 (Oryza sativa). [Internet]. Universidad de los Andes; 2021 [citado: 2022, enero] 26 hojas.
26. Suárez, Paula, Reyes, Rosa, La incorporación de metales pesados en las bacterias y su importancia para el ambiente. Interciencia [Internet]. 2002; 27(4):160-164. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33906702>
27. INAMHI. Información agro-meteorológica del campus “La María” Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), Estación Experimental Tropical Pichilingue Quevedo, Ecuador. 2019.
28. Juárez, M. y Sánchez, J. Fósforo en agricultura. Universidad de Alicante. Secretariado de publicaciones, 1996.
29. Wisuma, M. How do plants achieve tolerance to phosphorus deficiency? Small causes with big effects. Plants Physiol. (133): p. 1947-1958, 2003.
30. Dekock, P. C. y otros. A relation between the ratios of phosphorus to iron and potassium to calcium in mustard leaves. Plant Soil. (12): p. 128-142, 1960.
31. Konieczna, I., Żarnowiec, P., Kwinkowski, M., Kolesińska, B., Frączyk, J., Kamiński, Z., y Kaca, W. Bacterial Urease and its Role in Long-Lasting Human Diseases. Current Protein and Peptide Science, 13:789-806, 2012.
32. Gupta, G., Singh, S., Kumar, N., Kumar, S., y Singh, V. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. Microbial & Biochemical Technology, 7: 96-102, 2015.

33. Etesami, H., Emami, S., y Ali, H. Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects - a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17: 897-911, 2017.
34. Nguyen, C., Yan, W., Le Tacon, F., y Lapeyrie, F. Genetic variability of phosphate solubilizing activity by monocaryotic and dicaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* (Maire) P.D. Orton. *Plant and Soil*, 143: 193-199, 1992.
35. Goldstein AH. "Bioprocesamiento del mineral de fosfato de roca: consideraciones técnicas esenciales para el desarrollo de una tecnología comercial exitosa". En *Actas de la 4.a Conferencia Técnica de la Asociación Internacional de Fertilizantes*, (París: IFA); 2020. p. 220.
36. Rodríguez H, Fraga R. Bacterias solubilizadoras de fosfato y su papel en la promoción del crecimiento vegetal. *Biotechnología Adv* [Internet]. 17:319–39. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0734-9750\(99\)00014-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0734-9750(99)00014-2)
37. Seshachala U, Tallapragada P. Solubilizadores de fosfato de la rizosfera de *Piper nigrum* L. *Agric* [Internet]. 2012;72:397–403. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392012000300014>
38. Goldstein AH. Implicación de la quinoproteína glucosa deshidrogenasa en la solubilización de fosfatos exógenos por bacterias gramnegativas. *Phosphate in Microorganisms: Cellular and Molecular Biology*, eds A. 1994;197–203.
39. Archana DS, Nandish MS, Savalagi VP, Alagawadi AR. Screening of potassium solubilizing bacteria (ksb) for plant growth promotional activity. *Bioinfolet* [Internet]. 2012;9(4):627–30. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/284757144_Screening_of_potassium_solubilizing_bacteria_KSB_for_plant_growth_promotional_activity
40. Wang D-C, Jiang C-H, Zhang L-N, Chen L, Zhang X-Y, Guo J-H. Biofilms positively contribute to *Bacillus amyloliquefaciens* 54-induced drought tolerance in tomato plants. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 2019;20(24):6.271-6.287. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20246271>

41. Basak B, Biswas D. Modification of waste mica for alternative source of potassium: Evaluation of potassium release in soil from waste mica treated with potassium solubilizing bacteria (ksb). Lambert Academic Publishing.; 2012.
42. Singh G, Biswas DR, Marwaha TS. Mobilization of potassium from waste mica by plant growth promoting rhizobacteria and its assimilation by maize (*Zea mays*) and wheat (*Triticum aestivum* L.): Journal of Plant Nutrition [Internet]. 2010;33(8):1.236-1.251. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/01904161003765760>
43. Beaugregard PB. Chapter one - Not just sweet talkers: How roots stimulate their colonization by beneficial bacteria. Advances in botanical research [Internet]. 2015;75:1–20. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.abr.2015.07.001>
44. Berg G. Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: Perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. Applied Microbiology and Biotechnology [Internet]. 2009;84(1):11–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-009-2092-7>
45. Branda SS, Chu F, Kearns DB, Losick R, Kolter R. A major protein component of the *Bacillus subtilis* biofilm matrix. Molecular Microbiology, [Internet]. 2006;59(4):1.229-1.238. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.05020.x>
46. Vlamakis H, Chai Y, Beaugregard P, Losick R, Kolter R. Sticking together: Building a biofilm the *Bacillus subtilis* way. Nature Reviews Microbiology [Internet]. 2013;11(3):157–68. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2960>
47. Seneviratne G, Weerasekara MLMAW, Seneviratne KACN, Zavahir JS, Kecskés ML, Kennedy IR. Importance of biofilm formation in plant growth promoting rhizobacterial action. Plant growth and health promoting bacteria [Internet]. 2011;81–95. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_4
48. Bonilla R, Gonzáles L, Pedraza R. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal [Internet]. Agrosavia; 2021. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21930/agrosavia>.
49. Zhang N, Yang D, Wang D, Miao Y, Shao J, Zhou X, et al. Whole transcriptomic analysis of the plant-beneficial rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9

- during enhanced biofilm formation regulated by maize root exudates. *bmc Genomics* [Internet]. 2015;16(1):685. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-015-1825-5>
50. Bais HP, Fall R, Vivanco JM. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of arabidopsis roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiology* [Internet]. 2004;134(1):307–19. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.103.028712>
 51. Brear EM, Day DA, Smith PMC. Iron: An essential micronutrient for the legume-rhizobium symbiosis. *Frontiers in Plant Science*, [Internet]. 2013;4:359. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2013.00359>
 52. Aguado-Santacruz G, Moreno-Gómez B, Jiménez-Francisco B, Garcia-Moya E, Preciado-Ortiz r. Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *fitotec.* 2012;35(1):1–13.
 53. Neilands JB. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *J Biol Chem.* 1995;270:26723–6.
 54. Dehner CA, Awaya JD, Maurice PA, DuBois JL. Roles of siderophores, oxalate, and ascorbate in mobilization of iron from hematite by the aerobic bacterium *Pseudomonas mendocina*. *Appl Env Microbiol.* 2010;76:2041–8.
 55. Crowley DE, Reid CPP, Szaniszló PJ. Microbial siderophores as iron sources for plants. In: *Iron Transport in Microbes, Plants and Animals*. G Winkelmann, D Van der Helm, J B Neilands, V C H Weinheim; 1987.
 56. Althaus EW, Outten CE, Olson KE, Cao H, O'Halloran TV. The ferric uptake regulation (Fur) repressor is a zinc metalloprotein. *Biochemistry.* 1999;38:6559–69.
 57. Moeck G, Coulton JW. TonB-dependent iron acquisition: mechanisms of siderophore-mediated active transport. *Mol Microbiol.* 1998;28:675–81.
 58. Đorđević S, Stanojević D, Vidović M, Mandić V, Trajković I. The use of bacterial indol-3-acetic acid (IAA) for reduce of chemical fertilizers doses. *Hemijaska Industrija* [Internet]. 2017;71(13):195–200. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2298/hemind160317029d>

59. Cortés-Patiño S, Avellaneda L, Moreno-Galvan A, Bonilla R. Bacterias diazotróficas con potencial para promover el crecimiento de las pasturas en condiciones de salinidad [ponencia en congreso. En Villa de Leyva, Boyacá, Colombia.: XVIII Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo,; 2016.
60. Shilev S, Babrikova I, Babrikov T. Consortium of plant growth-promoting bacteria improves spinach (*Spinacea oleracea* L.) growth under heavy metal stress conditions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* [Internet]. 2020;95(4):932–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.6077>
61. Atiyeh RM, Domínguez J, Subler S, Edwards CA. Changes in biochemical properties of cow manure during processing by earthworms (*Eisenia andrei*, Bouché) and the effects on seedling growth. *Pedobiologia*, [Internet]. 2020;44(6):709–24. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1078/S0031-4056\(04\)70084-0](http://dx.doi.org/10.1078/S0031-4056(04)70084-0)
62. De la Cruz-Lázaro E, Estrada-Botello MA V, Robledo-Torres V, Osorio-Osorio R, Márquez-Hernández C, Sánchez-Hernández R. Producción de tomate en invernadero con composta y vermicomposta como sustrato. *Universidad y Ciencia* [Internet]. 2009;25(1):59–67. Disponible en: http://dx.doi.org/http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-29792009000100004
63. Moreno-Galván A, Romero-Perdomo FA, Estrada-Bonilla G, Meneses CHSG, Bonilla RR. Dry-Caribbean *Bacillus* spp. strains ameliorate drought stress in maize by a strainspecific antioxidant response modulation. *Microorganisms*, [Internet]. 2020;20(6):823. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms8060823>
64. Camelo M, Vera S, Bonilla R. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 2011;12(2):15–166.
65. Weert S, Kuiper I, Legendijk EL, Gerda E, Lamers M, Ben J, et al. Role of chemotaxis toward fusaric acid in colonization of hyphae of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* by *Pseudomonas fluorescens* WCS365. *Mol Plant Microbe Interact*. 2003;17(11):1185–91.
66. Ahmad F, Ahmad I, Khan MS. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol Res*. 2006;36:1–9.

67. Antoun H, Beauchamp CJ, Goussard N, Chabot R, Lalande R. Potential of Rhizobium and Bradyrhizobium species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: Effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). *Molecular microbial ecology of the soil: Results from an fao/iaea co-ordinated research programme* [Internet]. 1998;57–67. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/978-94-017-2321-3_5
68. Cassán F, Perrig D, Sgroy V, Masciarelli O, Penna C, Luna V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of Soil Biology* [Internet]. 2009;45(1):28–35. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.08.005>
69. Schmidt W. Mechanisms and regulation of reduction-based iron uptake in plants. *New Phytologist* [Internet]. 1999;14(11):1–26. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00331.x>
70. Takagi S. The absorption mechanism of heavy metals by the plants, especially on the secretion of iron-solubilizing substances and iron absorption from the plant roots. En Tokio, JP. Yokendo Press: In *Studies on the Soil Science and Plant Nutrition in Modern Agriculture.*; p. 66.
71. Nomoto K, Yoshioka H, Takemoto T, Fushiya S, Nozoe S, Takagi S. A new amino acid possessing Fe-chelating activity secreted from grasses. 619-623: *Chemistry of Natural Products*. Fukuoka; 1981.
72. Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012; 28(4), 1327-1350.
73. SAG. (2003). *Manual técnico para el cultivo de arroz (Oryza sativa)*. Para extensionistas y productores. Secretaria de Agricultura y Ganadería, 2003. Disponible : <https://curlacavunah.files.wordpress.com/2010/04/el-cultivo-del-arroz.pdf>.
74. Lucía C, Zuly A, Vanessa M. Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *Científica en Ciencias Biomédicas*. 2014;12:1–13.

CAPITULO VII

ANEXOS

7.1 Anexos

Anexo A. Prueba de compatibilidad entre bacterias.



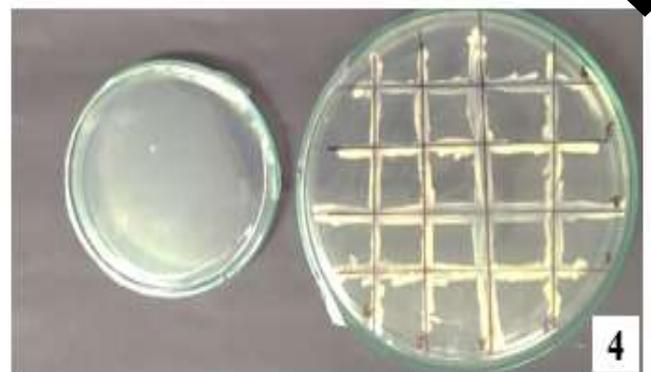
Crecimiento del inóculo bacteriano en medio King-B.



Agitación de las bacterias por 24 horas a 1800 rpm.



Estriado de bacterias en cada placa con su respectiva rotulación.

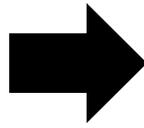


Resultado de la prueba de compatibilidad.

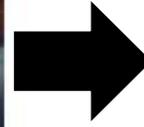
Anexo B. Prueba bioquímica de la producción de potasio por parte de las bacterias



1
Crecimiento de bacterias en medio King B por 24 horas.



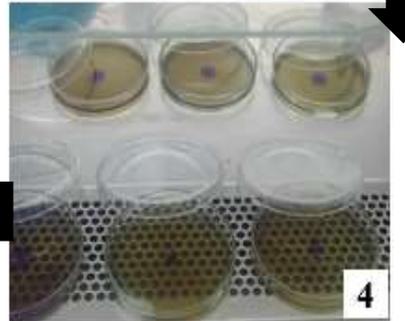
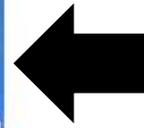
2
Plaqueo con el cultivo de medio Pikoskaya Modificado.



3
Siembra de bacterias en el medio específico para su producción de fósforo.



5
Toma de solubilización por 24, 48, 72 horas de crecimiento de halo.



4
Finalización de la siembra de bacterias en las placas Petri.

Anexo C. Producción de ácido indolacético.



1
Crecimiento del inculo bacteriano en medio King-B suplementado con triptófano (0,025g/500ml).



2
Centrifugación de 1 ml del Pre-inoculo durante 5 min x 10 000 rpm.



3
Cosecha de 250 ul del sobrenadante obtenido del Pre-inoculo.

Reacción de la muestra después de 30 min.



5

Empleo de 1 ml del reactivo Salkowski en 250 ul de sobrenadante.



4

Anexo D. Siembra y conteo de UFC.



Preparación de medio y crecimiento las bacterias en tubos de ensayo.

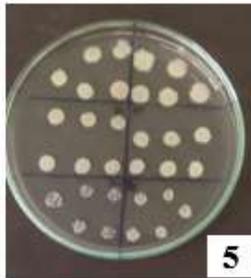


Se realizó una disolución seriada hasta la -6 a cada una de las soluciones para de esta manera ir disminuyendo su carga bacteriana.



Se procedió a vertir una mediante la técnica de la micro gota en cada una de las sección de la caja se rotulo e incubo.

Placa con visualización de colonias en cada disolución.



Se realizó el conteo de cada una de las colonias y se fue tomando datos de cada sección de la caja Petri.



Anexo E. Solubilización de potasio; 24 h.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% De Solubilidad	30	0,56	0,36	15,81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	365,50	9	40,61	2,78	0,0273
Bacterias	365,50	9	40,61	2,78	0,0273
Error	292,18	20	14,61		
Total	657,69	29			

Anexo F. Solubilización de potasio; 48 h.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% De Solubilidad	30	0,52	0,31	12,71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	283,29	9	31,48	2,45	0,0457
Bacterias	283,29	9	31,48	2,45	0,0457
Error	257,01	20	12,85		
Total	540,30	29			

Anexo G. Solubilización de potasio; 72 h.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% De Solubilidad	30	0,81	0,73	18,40

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6902,06	9	766,90	9,66	<0,0001
Bacterias	6902,06	9	766,90	9,66	<0,0001
Error	1588,34	20	79,42		
Total	8490,41	29			

Anexo H. Solubilización de fosforo; 24 h.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% De Solubilidad	30	0,77	0,66	32,01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1173,27	9	130,36	7,33	0,0001
Bacterias	1173,27	9	130,36	7,33	0,0001
Error	355,50	20	17,78		
Total	1528,77	29			

Anexo I. Solubilización de fosforo; 48 h.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% De Solubilidad	30	0,78	0,68	27,18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1095,34	9	121,70	7,84	0,0001
Bacterias	1095,34	9	121,70	7,84	0,0001
Error	310,40	20	15,52		
Total	1405,74	29			

Anexo J. Solubilización de fosforo; 72 h.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% De Solubilidad	30	0,78	0,67	26,95

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1210,79	9	134,53	7,69	0,0001
Bacterias	1210,79	9	134,53	7,69	0,0001
Error	349,99	20	17,50		
Total	1560,77	29			

Anexo K. Producción de ureasa; 24 h.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% De Solubilidad	30	0,98	0,97	48,99

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1906,11	9	211,79	125,00	<0,0001
Bacterias	1906,11	9	211,79	125,00	<0,0001
Error	33,89	20	1,69		
Total	1939,99	29			

Anexo L. Producción de ureasa; 48 h.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% De Solubilidad	30	0,99	0,99	37,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3235,45	9	359,49	213,08	<0,0001
Bacterias	3235,45	9	359,49	213,08	<0,0001
Error	33,74	20	1,69		
Total	3269,19	29			

Anexo M. Producción de ureasa; 72 h.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% De Solubilidad	30	1,00	1,00	15,29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5130,24	9	570,03	1282,60	<0,0001
Bacterias	5130,24	9	570,03	1282,60	<0,0001
Error	8,89	20	0,44		
Total	5139,13	29			

Anexo N. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-8, 24 h

24 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 Horas	9	1,00	0,99	11,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,81554498262867E20	2	9,07772491314333E19	658,44	<0,0001
Hierro	1,81554498262867E20	2	9,07772491314333E19	658,44	<0,0001
Error	827208182933318000,00	6	137868030488886000,00		
Total	1,823817064458E20	8			

Anexo O. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-8, 48 h

48 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
48 Horas	9	1,00	1,00	0,12

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,486311468888889E20	2	2,24315573444445E20	6269689,95	<0,0001
Hierro	4,486311468888889E20	2	2,24315573444445E20	6269689,95	<0,0001
Error	214666666513632,00	6	35777777752272,00		
Total	4,48631361555556E20	8			

Anexo P. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-8, 72 h

72 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
72 Horas	9	0,44	0,25	11,42

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13555555555555,60	2	6777777777777,78	2,35	0,1767
Hierro	13555555555555,60	2	6777777777777,78	2,35	0,1767
Error	17333333333333,30	6	2888888888888,89		
Total	30888888888888,90	8			

Anexo Q. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 24 h

24 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 Horas	9	0,15	0,00	10,55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,306666666666667E18	2	653333333333334000,00	0,54	0,6107
Hierro	1,306666666666667E18	2	653333333333334000,00	0,54	0,6107
Error	7,313333333333333E18	6	1,218888888888889E18		
Total		8	8,62E18		

Anexo R. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 48 h

48 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
48 Horas	9	0,89	0,86	2,93

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,286666666666667E18	2	2,643333333333333E18	25,04	0,0012
Hierro	5,286666666666667E18	2	2,643333333333333E18	25,04	0,0012
Error	633333333333333000,00	6	105555555555556000,00		
Total		8	5,92E18		

Anexo S. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 72 h

72 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
72 Horas	9	0,50	0,33	3,77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2000000000000,00	2	1000000000000,00	3,00	0,1250
Hierro	2000000000000,00	2	1000000000000,00	3,00	0,1250
Error	2000000000000,00	6	333333333333,33		
Total	4000000000000,00	8			

Anexo T. Cinética de crecimiento (UFC); R4, 24 h

24 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 Horas	9	0,98	0,98	11,51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	37163800555555600,00	2	18581900277777800,00	171,51	<0,0001
Hierro	37163800555555600,00	2	18581900277777800,00	171,51	<0,0001
Error	650054466666668,00	6	108342411111111,00		
Total	37813855022222200,00	8			

Anexo U. Cinética de crecimiento (UFC); R4, 48 h

48 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
48 Horas	9	0,99	0,99	6,48

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	121233388888889000,00	2	6061669444444400,00	545,55	<0,0001
Hierro	121233388888889000,00	2	6061669444444400,00	545,55	<0,0001
Error	666666666666663,00	6	111111111111111,00		
Total	121900055555556000,00	8			

Anexo V. Cinética de crecimiento (UFC); R4, 72 h

72 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
72 Horas	9	0,88	0,84	11,85

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	213555555555556,00	2	106777777777778,00	22,35	0,0017
Hierro	213555555555556,00	2	106777777777778,00	22,35	0,0017
Error	28666666666666,60	6	4777777777777,77		
Total	24222222222222,00	8			

Anexo W. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-6, 24 h

24 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 Horas	9	0,99	0,99	13,97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	313177228422222000,00	2	1565886142111111000,00	454,61	<0,0001
Hierro	313177228422222000,00	2	1565886142111111000,00	454,61	<0,0001
Error	2066688866666730,00	6	344448144444455,00		
Total	315243917288889000,00	8			

Anexo X. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-6, 48 h

48 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
48 Horas	9	0,99	0,99	11,18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3667672222222200,00	2	18338361111111100,00	386,52	<0,0001
Hierro	3667672222222200,00	2	18338361111111100,00	386,52	<0,0001
Error	28466666666666,00	6	47444444444444,40		
Total	3696138888888900,00	8			

Anexo Y. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-6, 72 h

72 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
72 Horas	9	0,75	0,66	8,78

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	400555555555560,00	2	200277777777780,00	8,94	0,0159
Hierro	400555555555560,00	2	200277777777780,00	8,94	0,0159
Error	134466666666670,00	6	22411111111111,00		
Total	53502222222220,00	8			

Anexo Z. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 24 h

24 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 Horas	9	0,76	0,68	11,61

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	619022222222220,00	2	309511111111110,00	9,57	0,0136
Hierro	619022222222220,00	2	309511111111110,00	9,57	0,0136
Error	194066666666670,00	6	323444444444445,00		
Total	813088888888890,00	8			

Anexo AA. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 48 h

48 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
48 Horas	9	0,91	0,88	7,80

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	777755555555560,00	2	388877777777780,00	30,46	0,0007
Hierro	777755555555560,00	2	388877777777780,00	30,46	0,0007
Error	766000000000000,00	6	127666666666667,00		
Total	854355555555560,00	8			

Anexo BB. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-12, 72 h

72 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
72 Horas	9	0,96	0,94	15,81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,19013555555556E19	2	5,95067777777778E18	66,84	0,0001
Hierro	1,19013555555556E19	2	5,95067777777778E18	66,84	0,0001
Error	53419999999998000,00	6	8903333333333000,00		
Total	1,24355555555556E19	8			

Anexo CC. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-14, 24 h

24 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 Horas	9	0,69	0,59	10,32

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,002666666666667E19	2	1,001333333333333E19	6,79	0,0288
Hierro	2,002666666666667E19	2	1,001333333333333E19	6,79	0,0288
Error	8,853333333333333E18	6	1,475555555555556E18		
Total	2,888E19	8			

Anexo DD. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-14, 48 h

48 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
48 Horas	9	0,48	0,31	13,50

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15882222222222,20	2	7941111111111,11	2,80	0,1386
Hierro	15882222222222,20	2	7941111111111,11	2,80	0,1386
Error	17033333333333,30	6	2838888888888,89		
Total	32915555555555,60	8			

Anexo EE. Cinética de crecimiento (UFC); PM 3-14, 72 h

72 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
72 Horas	9	0,98	0,97	10,88

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,85335555555556E20	2	9,26677777777778E19	118,97	<0,0001
Hierro	1,85335555555556E20	2	9,26677777777778E19	118,97	<0,0001
Error	4,67333333333336E18	6	778888888888894000,00		
Total	1,90008888888889E20	8			

Anexo FF. Cinética de crecimiento (UFC); BO 3-4, 24 h

24 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 Horas	9	0,99	0,98	15,83

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	61572886666666700,00	2	30786443333333300,00	230,42	<0,0001
Hierro	61572886666666700,00	2	30786443333333300,00	230,42	<0,0001
Error	801653333333342,00	6	133608888888890,00		
Total	62374540000000000,00	8			

Anexo GG. Cinética de crecimiento (UFC); BO 3-4, 48 h

48 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
48 Horas	9	0,97	0,96	13,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,515E18	2	2,2575E18	88,18	<0,0001
Hierro	4,515E18	2	2,2575E18	88,18	<0,0001
Error	153600000000000000,00	6	25600000000000000,00		
Total	4,6686E18	8			

Anexo HH. Cinética de crecimiento (UFC); BO 3-4, 72 h

72 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
72 Horas	9	0,97	0,96	11,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,81166666666667E20	2	9,05833333333333E19	109,28	<0,0001
Hierro	1,81166666666667E20	2	9,05833333333333E19	109,28	<0,0001
Error	4,97333333333336E18	6	828888888888893000,00		
Total	1,8614E20	8			

Anexo II. Cinética de crecimiento (UFC); BA 4-19, 24 h

24 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 Horas	9	0,99	0,99	13,90

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,7563755555555555E19	2	8,781877777777777E18	272,82	<0,0001
Hierro	1,7563755555555555E19	2	8,781877777777777E18	272,82	<0,0001
Error	1931333333333341000,00	6	32188888888890200,00		
Total	1,775688888888889E19	8			

Anexo JJ. Cinética de crecimiento (UFC); BA 4-19, 48 h

48 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
48 Horas	9	1,00	0,99	8,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,629688888888889E20	2	1,314844444444445E20	661,09	<0,0001
Hierro	2,629688888888889E20	2	1,314844444444445E20	661,09	<0,0001
Error	1,193333333333322E18	6	198888888888871000,00		
Total	2,641622222222222E20	8			

Anexo KK. Cinética de crecimiento (UFC); BA 4-19, 72 h

72 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
72 Horas	9	0,97	0,97	4,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,144222222222222E19	2	1,072111111111111E19	114,87	<0,0001
Hierro	2,144222222222222E19	2	1,072111111111111E19	114,87	<0,0001
Error	559999999999999000,00	6	9333333333333200,00		
Total	2,200222222222222E19	8			

Anexo LL. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-4, 24 h

24 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 Horas	9	0,83	0,77	9,83

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,26422222222222E19	2	2,13211111111111E19	14,29	0,0052
Hierro	4,26422222222222E19	2	2,13211111111111E19	14,29	0,0052
Error	8,95333333333333E18	6	1,49222222222222E18		
Total	5,15955555555555E19	8			

Anexo MM. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-4, 48 h

48 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
48 Horas	9	0,98	0,97	9,23

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,03262222222222E20	2	5,16311111111111E19	153,87	<0,0001
Hierro	1,03262222222222E20	2	5,16311111111111E19	153,87	<0,0001
Error	2,01333333333333E18	6	33555555555555E000,00		
Total	1,05275555555555E20	8			

Anexo NN. Cinética de crecimiento (UFC); BMR 2-4, 72 h

72 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
72 Horas	9	0,96	0,95	4,95

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,88422222222222E19	2	2,94211111111111E19	73,15	0,0001
Hierro	5,88422222222222E19	2	2,94211111111111E19	73,15	0,0001
Error	2,41333333333333E18	6	40222222222222E1000,00		
Total	6,12555555555555E19	8			

Anexo OO. Cinética de crecimiento (UFC); CHA0, 24 h

24 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24 Horas	9	0,97	0,96	12,62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9,947466666666667E18	2	4,973733333333333E18	103,07	<0,0001
Hierro	9,947466666666667E18	2	4,973733333333333E18	103,07	<0,0001
Error	289533333333334000,00	6	48255555555555600,00		
Total	1,0237E19	8			

Anexo PP. Cinética de crecimiento (UFC); CHA0, 48 h

48 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
48 Horas	9	0,99	0,99	8,32

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,937958135555556E18	2	2,468979067777778E18	317,44	<0,0001
Hierro	4,937958135555556E18	2	2,468979067777778E18	317,44	<0,0001
Error	46666926666665800,00	6	77778211111110960,00		
Total	4,984625062222222E18	8			

Anexo QQ. Cinética de crecimiento (UFC); CHA0, 72 h

72 Horas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
72 Horas	9	0,97	0,96	12,31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,642466666666667E20	2	1,321233333333333E20	98,68	<0,0001
Hierro	2,642466666666667E20	2	1,321233333333333E20	98,68	<0,0001
Error	8,033333333333334E18	6	1,338888888888889E18		
Total	2,7228E20	8			

Anexo RR. Niveles de absorbancia; BMR 2-12,2000 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorbancia	12	0,91	0,88	23,13

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,02	3	0,01	28,26	0,0001
hora	0,02	3	0,01	28,26	0,0001
Error	1,6E-03	8	2,0E-04		
Total	0,02	11			

Anexo SS. Niveles de absorbancia; BMR 2-12,2500 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorbancia	12	0,84	0,78	29,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,03	3	0,01	13,81	0,0016
hora	0,03	3	0,01	13,81	0,0016
Error	4,9E-03	8	6,1E-04		
Total	0,03	11			

Anexo TT. Niveles de absorbancia; BMR 2-12,3000 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorbancia	12	1,00	0,99	10,31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,07	3	0,02	641,66	<0,0001
hora	0,07	3	0,02	641,66	<0,0001
Error	2,9E-04	8	3,7E-05		
Total	0,07	11			

Anexo UU. Niveles de absorbancia; PM 3-8,2000 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorbancia	12	0,77	0,69	25,50

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,02	3	0,01	9,07	0,0059
hora	0,02	3	0,01	9,07	0,0059
Error	0,01	8	8,6E-04		
Total	0,03	11			

Anexo VV. Niveles de absorbancia; PM 3-8,2500 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorbancia	12	0,96	0,95	17,21

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,05	3	0,02	68,03	<0,0001
hora	0,05	3	0,02	68,03	<0,0001
Error	2,1E-03	8	2,6E-04		
Total	0,05	11			

Anexo WW. Niveles de absorbancia; PM 3-8,3000 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorbancia	12	0,99	0,98	20,15

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,06	3	0,02	182,58	<0,0001
hora	0,06	3	0,02	182,58	<0,0001
Error	8,6E-04	8	1,1E-04		
Total	0,06	11			

Anexo XX. Niveles de absorbancia; BA 4-19,2000 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorbancia	12	0,98	0,98	14,79

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,04	3	0,01	174,41	<0,0001
hora	0,04	3	0,01	174,41	<0,0001
Error	5,5E-04	8	6,9E-05		
Total	0,04	11			

Anexo YY. Niveles de absorbancia; BA 4-19,2500 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorbancia	12	0,95	0,93	23,97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,04	3	0,01	49,55	<0,0001
hora	0,04	3	0,01	49,55	<0,0001
Error	2,2E-03	8	2,8E-04		
Total	0,04	11			

Anexo ZZ. Niveles de absorbancia; BA 4-19,3000 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorbancia	12	1,00	1,00	7,83

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,06	3	0,02	1060,13	<0,0001
hora	0,06	3	0,02	1060,13	<0,0001
Error	1,5E-04	8	1,9E-05		
Total	0,06	11			

Anexo AAA. Niveles de absorbancia; BMR 2-2,2000 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorvancia	12	0,96	0,94	17,93

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,04	3	0,01	61,89	<0,0001
hora	0,04	3	0,01	61,89	<0,0001
Error	1,5E-03	8	1,9E-04		
Total	0,04	11			

Anexo BBB. Niveles de absorbancia; BMR 2-2,2500 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorvancia	12	0,97	0,96	18,71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,05	3	0,02	90,52	<0,0001
hora	0,05	3	0,02	90,52	<0,0001
Error	1,5E-03	8	1,9E-04		
Total	0,05	11			

Anexo CCC. Niveles de absorbancia; BMR 2-2,3000 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorvancia	12	1,00	0,99	12,64

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,05	3	0,02	647,54	<0,0001
hora	0,05	3	0,02	647,54	<0,0001
Error	2,0E-04	8	2,5E-05		
Total	0,05	11			

Anexo DDD. Niveles de absorbancia; BMR 2-4,2000 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorvancia	12	0,98	0,97	13,47

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,03	3	0,01	140,57	<0,0001
hora	0,03	3	0,01	140,57	<0,0001
Error	5,5E-04	8	6,9E-05		
Total	0,03	11			

Anexo EEE. Niveles de absorbancia; BMR 2-4,2500 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorvancia	12	0,98	0,97	14,48

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,06	3	0,02	126,53	<0,0001
hora	0,06	3	0,02	126,53	<0,0001
Error	1,3E-03	8	1,7E-04		
Total	0,06	11			

Anexo FFF. Niveles de absorbancia; BMR 2-4,3000 ppm

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
absorvancia	12	0,99	0,98	18,55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,05	3	0,02	212,94	<0,0001
hora	0,05	3	0,02	212,94	<0,0001
Error	6,8E-04	8	8,5E-05		
Total	0,06	11			

Anexo GGG. Producción de AIA; 24 h

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
VALOR	30	0,97	0,96	17,31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1000,27	9	111,14	71,73	<0,0001
CEPA	1000,27	9	111,14	71,73	<0,0001
Error	30,99	20	1,55		
Total	1031,26	29			

Anexo HHH. Producción de AIA; 48 h

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
VALOR	30	0,95	0,92	11,97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1984,83	9	220,54	38,96	<0,0001
CEPA	1984,83	9	220,54	38,96	<0,0001
Error	113,21	20	5,66		
Total	2098,04	29			

Anexo III. Producción de AIA; 72 h

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
VALOR	30	0,96	0,94	13,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	798,82	9	88,76	53,01	<0,0001
CEPA	798,82	9	88,76	53,01	<0,0001
Error	33,49	20	1,67		
Total	832,31	29			

Anexo JJJ. Altura de la planta

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA DE LA PLANTA	20	0,71	0,63	12,11

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	655,73	4	163,93	9,18	0,0006
Tratamiento	655,73	4	163,93	9,18	0,0006
Error	267,83	15	17,86		
Total	923,56	19			

Anexo KKK. Número de hojas

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NUMERO DE HOJAS	20	0,34	0,17	13,11

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,70	4	0,43	1,96	0,1524
Tratamiento	1,70	4	0,43	1,96	0,1524
Error	3,25	15	0,22		
Total	4,95	19			

Anexo LLL. Longitud radicular

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONGITUD RADICULAR	20	0,41	0,25	15,18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	179,30	4	44,83	2,59	0,0791
Tratamiento	179,30	4	44,83	2,59	0,0791
Error	259,50	15	17,30		
Total	438,80	19			

Anexo MMM. Peso fresco de la raíz

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PESO FRESCO, RAIZ	20	0,96	0,95	10,94

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	400,00	4	100,00	83,61	<0,0001
Tratamiento	400,00	4	100,00	83,61	<0,0001
Error	17,94	15	1,20		
Total	417,94	19			

Anexo NNN. Peso fresco del tallo

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PESO FRESCO, TALLO	20	0,99	0,98	6,40

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	292,50	4	73,13	297,26	<0,0001
Tratamiento	292,50	4	73,13	297,26	<0,0001
Error	3,69	15	0,25		
Total	296,19	19			

Anexo OOO. Peso seco de la raíz

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PESO SECO, RAIZ	20	0,96	0,95	11,44

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,94	4	0,23	96,98	<0,0001
Tratamiento	0,94	4	0,23	96,98	<0,0001
Error	0,04	15	2,4E-03		
Total	0,97	19			

Anexo PPP. Peso seco del tallo

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PESO SECO, TALLO	20	0,98	0,98	7,45

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,15	4	0,04	191,12	<0,0001
Tratamiento	0,15	4	0,04	191,12	<0,0001
Error	2,8E-03	15	1,9E-04		
Total	0,15	19			