

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



“COMPATIBILIDAD Y TIEMPO DE SOBREVIVENCIA DE TRES BACTERIAS BENÉFICAS DE USO AGRÍCOLA (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus laterosporus*), EN BIOLES”

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO
REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERO AGRÓNOMO

AUTOR:

Pablo Aníbal Rodríguez Benavides

TUTOR:

Dr. Carlos Vásquez

CEVALLOS - ECUADOR

2021

“COMPATIBILIDAD Y TIEMPO DE SOBREVIVENCIA DE TRES BACTERIAS BENÉFICAS DE USO AGRÍCOLA (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus laterosporus*), EN BIOLES”

REVISADO POR:

Firmado electrónicamente por:
**CARLOS LUIS
VASQUEZ
FREYTEZ**



.....
PhD. Carlos Luis Vásquez.
TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO:

FECHA

.....
Ing. Agr. Marco Pérez Mg.
RESIDENTE DE TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

01 – 10 – 2020

.....
Ing. Agr. Luis Villacis Mg.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

01 – 10 – 2020

EDWIN
PALLO



LEONARDO
PAREDES

.....
Ing. Agr. Edwin Pallo Mg.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

01 – 10 – 2020

AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, PABLO ANÍBAL RODRÍGUEZ BENAVIDES, portadora de cédula de identidad número: 1804705943, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: **“COMPATIBILIDAD Y TIEMPO DE SOBREVIVENCIA DE TRES BACTERIAS BENÉFICAS DE USO AGRÍCOLA (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus laterosporus*), EN BIOLES”** es original, autentico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.

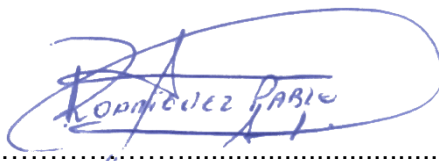


.....
PABLO ANIBAL RODRIGUEZ BENAVIDES

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “**COMPATIBILIDAD Y TIEMPO DE SOBREVIVENCIA DE TRES BACTERIAS BENÉFICAS DE USO AGRÍCOLA (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus laterosporus*), EN BIOLES**” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad. Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.



.....
PABLO ANIBAL RODRIGUEZ BENAVIDES

ÍNDICE GENERAL

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO:	ii
AUTORIA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	iii
DERECHO DE AUTOR	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
CAPÍTULO I	1
MARCOTEÓRICO	1
INTRODUCCIÓN	1
1.2 Antecedentes Investigativos	2
1.3 Objetivos	7
1.4 Categorías fundamentales	7
1.4.1 Variable dependiente (Microorganismos benéficos de diferentes especies)	7
1.4.2. Bacillus subtilis	8
1.4.3. Bacillus thuringiensis	9
1.4.4. Bacillus laterosporus	9
Variable dependiente	10
CAPÍTULO II	11
METODOLOGÍA	11
Ubicación:	11
Factores en estudio:	11
Manejo del Experimento	11
Preparación del biol	11
Insumos para la preparación del biol	11
Preparación del biol	11
Variables respuesta	12

Toma de muestras	13
Descripción de los tratamientos:.....	14
Diseño Experimental:	14
CAPÍTULO III	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
CAPÍTULO IV	26
CONCLUSIONES Y REOMENDACIONES.....	26
4.1. CONCLUSIONES.....	26
4.2. RECOMENDACIONES	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
ANEXOS	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Clasificación taxonómica de las bacterias del género Bacillus	8
Tabla N° 2 Distribución de los tratamientos Tabla 2. Distribución de los tratamientos	14
Tabla N° 3 Valores promedios de pH por tratamientos	15
Tabla N° 4 Valores promedios de ufc por tratamientos (30 días de inoculado)	16
Tabla N° 5 Valores promedios de ufc por tratamientos (60 días de inoculado).....	17
Tabla N° 6 Valores promedios de ufc por tratamientos (60 días de inoculado).....	19
Tabla N° 7 Análisis microbiológico del biol antes del inocular bacterias	20
Tabla N° 8 Análisis microbiológico del biol después de cultivar las bacterias 90 días de inoculación	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1 Valores promedios de pH por tratamientos	15
Figura N° 2 Número de UFC de las bacterias mililitro a los 30 días	16
Figura N° 3 Por cada mililitro de microorganismos a los 60 días	18
Figura N° 4 Ufc de las diferentes especies de Bacillus por cada mililitro de microorganismos a los 90 días	19

RESUMEN

En la actualidad la contaminación y pérdida de macro y microfauna y flora por el uso excesivo de pesticidas, permite que el ataque de plagas y enfermedades en los cultivos se más agresivos y difíciles de controlar. El suelo todo momento alimenta a los seres vivos en el conviven millones de microorganismos formando un equilibrio total de sobrevivencia. Los microorganismos permiten la nutrición de las plantas, controlan plagas y enfermedades en los cultivos. En esta propuesta científica, se evaluó la compatibilidad y tiempo de sobrevivencia de tres bacterias del género *Bacillus*, de uso agrícola, para mejoramiento de bioles. En cada tratamiento se evaluó el número de UFC (Unidades Formadoras de Colonia) a los 30, 60 y 90 días después de la inoculación en un sustrato biol, los tratamientos fueron comparados con un testigo donde no fue inoculada las bacterias. De acuerdo con los resultados los menores valores poblacionales fueron observados 1 mes después de la inoculación del biol con las diferentes especies de *Bacillus*, en el cual no se observó efecto de la especie de bacteria ni de la dosis aplicada, observándose que el número de UFC varió desde 188,4 en *B. subtilis* hasta 1186,1 en *B. thuringiensis*. Las evaluaciones al segundo mes mostraron que hubo efecto de interacción entre la bacteria y la dosis utilizada, notándose que el mayor incremento en el número de UFC ocurrió cuando se usó *B. laterosporus* a 150 mL/20L de biol en el cual alcanzó 2824,0 UFC. Por otra lado, las siguientes combinaciones resultaron en las menores poblaciones fueron *B. laterosporus* a 50 mL, *B. thuringiensis* a la dosis de 100 mL y *B. subtilis* a dosis 100 y 150 mL. El resto de los tratamientos mostró valores intermedios que oscilaron entre 1114,6 y 2215,3 UFC cuando se usó *B. thuringiensis* a dosis de 50 y 150 mL, respectivamente.

Palabras claves: biol, bacteria, *Bacillus*, inoculación, interacción, tratamientos, UFC.

ABSTRACT

At present, the contamination and loss of macro and micro fauna and flora due to the excessive use of pesticides, allows the attack of pests and diseases in crops to be more aggressive and difficult to control. The soil feeds living beings in which millions of microorganisms coexist, forming a total balance of survival. Microorganisms allow plant nutrition, control pests and diseases in crops. In this scientific proposal, the compatibility and survival time of three bacteria of the *Bacillus* genus, for agricultural use, were evaluated for the improvement of bioles. In each treatment the number of CFU (colony forming units) was evaluated at 30, 60 and 90 days after inoculation in a biol substrate, the treatments were compared with a control where the bacteria were not inoculated. According to the results, the lowest population values were observed 1 month after inoculation of the biol with the different species of *Bacillus*, in which no effect of the species of bacteria or the applied dose was observed, observing that the number of CFU varied from 188.4 in *B. subtilis* up to 1186.1 in *B. thuringiensis*. The evaluations at the second month showed that there was an interaction effect between the bacteria and the dose used, noting that the greatest increase in the number of CFU occurred when *B. laterosporus* was used at 150 mL / 20L of biol in which it reached 2824.0 CFU (table 8). On the other hand, the following combinations resulted in the lowest populations were

B. laterosporus at 50 mL, *B. thuringiensis* at the 100 mL dose and *B. subtilis* at 100 and 150 mL doses. The rest of the treatments showed intermediate values that ranged between 1114.6 and 2215.3 CFU when *B. thuringiensis* was used at doses of 50 and 150 mL, respectively.

Keywords: biol, bacterium, *Bacillus*, inoculation, interaction, treatments, UFC.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

INTRODUCCIÓN

En la provincia de Tungurahua existe desconocimiento de nuevas técnicas de agricultura limpia, por lo que podemos utilizar métodos de control biológico, a partir del uso de bioles para promover la producción de alimentos de consumo humano libres de pesticidas.

El efecto de la sobreutilización ha ocasionado graves daños al ambiente y a la salud de las personas, la aplicación de conceptos y principios ecológicos en el diseño y gestión de agro ecosistemas sostenibles, manteniendo un balance entre la protección del medio ambiente y la reducción del uso de pesticidas con la necesidad de optimizar la producción agrícola (Gliessman, 2002).

La falta de investigación para mejorar técnicas de elaboración de bioles dentro de la agricultura limpia ha provocado la contaminación del suelo, agua, alimentos producidos por los agricultores con el uso único de pesticidas, destruyendo ecosistemas favorables para el desarrollo de una agricultura sostenible (Sarandón et al., 2014).

El crecimiento de la población ha provocado que la demanda de alimento sea mayor, para esto los productores exigen al suelo producir en forma abundante y permanente, dando como resultado suelos infértiles y desgastados. Los productores para reactivar dichos suelos han optado por la utilización de agroquímicos de forma excesiva y sin control, esta mala manipulación ha provocado daños en el medio ambiente y la salud (Ramírez y Lacasaña, 2001).

Las prácticas agrícolas orgánicas se están retomando de forma progresiva a nivel mundial. Ecuador ha generado ingresos económicos superiores a los 160 millones de dólares en el año 2007 debido a la exportación de productos orgánicos, incluyendo a más de 100. 000 familias en esta actividad, promoviendo de esta manera la soberanía alimentaria y el desarrollo económico y nutritivo (García, 2016).

El manejo de patógenos en la agricultura a través del uso de controladores biológicos es crucial, debido a las controversias sobre el uso de pesticidas químicos para el control de plagas y enfermedades de los cultivos debido a su efecto negativo sobre los seres humanos y el medio ambiente, es así que se promueve el uso de bacterias fitopatógenas benéficas para la agricultura (Juncosa y Fernández Castillo 2002).

Calvo y Zúñiga (2010) determinan que *Bacillus* es un género de bacterias presente en la rizosfera de varias plantas cultivadas, formando colonias que le da una ventaja de supervivencia, las cuales necesitan varios factores para sobrevivir en el suelo como la composición de los suelos, la materia orgánica, el pH, el agua y la disponibilidad de oxígeno, junto con la planta hospedante donde desempeñan un papel importante.

Una alternativa biológica es producir un biol que contengan tres bacterias del género *Bacillus* (*Bacillus thurigiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus laterosporus*), las cuales son fuente de nutrientes, materia orgánica, sustancias húmicas, reguladores de crecimiento y diferentes compuestos de naturaleza enzimática y proteica, los cuales influyen sobre el rendimiento de los cultivos y mejoran las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Rodríguez et al., 2017).

1.2 Antecedentes Investigativos

Las investigaciones realizadas por autores mencionan sobre la capacidad de las plagas y enfermedades que causan daños a la producción agrícola de generar resistencia a la aplicación de pesticidas por el mal manejo y uso excesivo, esto ha ocasionado diferentes consecuencias a la microbiótica de suelo, contaminación de recursos naturales. Existe escasa investigación en compatibilidad de bacterias del género *Bacillus*, sin embargo, existe información del uso individual de bacterias.

García (2016) recopila datos sobre el incremento de la producción orgánica a nivel mundial ha marcado en países en desarrollo condiciones prósperas para la producción y la distribución, se estima que hasta el año 2004 existían más de 26,4 millones de hectáreas aplicando procesos orgánicos, distribuidas en 558. 449 propiedades a nivel mundial aproximadamente en 139 países, el 24% de este valor se encuentra localizado en

Latinoamérica. Existen pocos países latinoamericanos con un nivel desarrollado en técnicas, métodos e investigación de producción orgánica. En Ecuador hasta el año 2004 el espacio de suelo utilizado para producción orgánica es de 60.000 hectáreas distribuido en 2.500 fincas productoras certificadas y otras en proceso de certificación (Charvet, 2012).

Calero Hurtado *et al.* (2019) Señalaron que a nivel mundial el estudio de los microorganismos beneficiosos para la agricultura se ha incrementado con el fin de evaluar la producción de sustancias para el control de insectos y hongos y la armonización y equilibrio de las especies presentes en el suelo y el medio ambiente, llegándose a determinar que alrededor de 120 países utilizan sus beneficios de los microorganismos benéficos para la agricultura.

Gliessman-Stephen (2002) determina que la agricultura convencional no puede ser sostenible si sus prácticas son dependientes de insumos externos no renovables y finitos, los problemas para el agricultor en cualquier lugar dependen de cuan vulnerables son los precios de los insumos externos y a la dependencia total de ellos. La fertilización, especialmente nitrogenada, consume la mayor energía indirecta utilizada para la producción agrícola, en la producción de maíz aproximadamente 152 kg de nitrógeno por hectárea, aplicado en forma de fertilizante, que representa el 28 % del total de energía utilizada. Existen varios métodos orgánicos que permiten reducir el consumo de fertilizantes externos, incluyendo la utilización de biol, compost, la inoculación al suelo de microorganismos que permitan la fijación biológica de los elementos químicos que necesita la planta y que, aunque están presentes en medio, no son asimilables o disponibles para la planta.

Los abonos orgánicos líquidos, también conocidos como bioles, biofertilizantes o biopreparados son obtenidos a partir de la descomposición anaeróbica de materia orgánica y su uso se ha vuelto muy popular en toda Latinoamérica, especialmente entre los pequeños productores (Restrepo 2001).

Aparcana (2008), en su investigación evaluaron el contenido del biol, donde localizaron fitohormonas, citoquininas, adeninas, giberelinas, purinas, auxinas, las cuales controlan un gran número de procesos fisiológicos de las plantas, tales como la germinación de las

semillas, estimulantes de floración, formación de nuevas raíces, fructificación y estimulan el crecimiento de tallos y hojas.

Herán et al. (2008) enuncian que los microorganismos convierten la materia orgánica que son complejos estructurales en sustancias húmicas, vitaminas, hormonas y compuestos orgánicos complejos en sustancias asimilables para la planta, favoreciendo al metabolismo y la nutrición de los cultivos. El biol se obtiene como un residuo de la producción del biogás en un biodigestor y consiste en una solución acuosa diluida, que se aplica de forma foliar y fertirrigación.

Agr et al. (2013) evaluaron el efecto de distintas dosis de biol enriquecido con microorganismos benéficos recolectados en la zona lindante con el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea*), obteniendo que la aplicación al 6% de concentración de microorganismos incrementó el crecimiento y desarrollo de las plantas, tomando como mayor altura (45,77 cm) a los 60 días y un diámetro de pella (19,77 cm), de igual forma incremento la longitud del limbo de la hoja (52,49 cm), obteniendo el mejor rendimiento (16,04 t/ha) con las prácticas agroecológicas utilizadas.

Según Santamaria (2009), los bioabonos o abonos biológicos son muy ricos en microorganismos que actúan de forma directa en procesos fisiológicos de la planta. Su uso representa una importante alternativa para limitar el uso de fertilizantes químicos, ofreciendo un producto sin residuos químicos lo que reduce el impacto ambiental, además de mejorar la productividad de los cultivos y potenciando el reciclaje de los desechos agropecuarios de la finca.

Abad y Koch (2014) evaluaron la eficiencia de aplicar biol enriquecido con microorganismos (*Lactobacillus* spp.), (*Aeromonas* spp.), (*Saccharomyces* spp.) y una mezcla de microorganismos en el cultivo de soya (*Glycine max*). Se realizó la fermentación del biol a los 25 días, aplicándolo a intervalos de 15 días en diferentes concentraciones (25, 50 y 75%). Al analizar la altura durante 45 días, demostró que existía diferencia estadística entre los tratamientos, alcanzándose el mayor de rendimiento con la concentración de 25%.

Según Avila et al. (2014), la aplicación de biol enriquecidos con microorganismos eficientes (EM) de preparación artesanal al suelo en el cultivo de maíz (*Zea mays*) a diferentes dosis incrementa su rendimiento y el beneficio costo y rentabilidad frente a la utilización de fertilizantes químicos. Los mayores valores de rendimiento obtuvieron los tratamientos T6 y el T5 con 6870 y 6570 kg/ha. Los valores promedios de la altura de la planta y mazorca son entre 205 cm a 182 cm en altura de planta y de 105.5 cm a 91 cm para altura de mazorca, determinado que los menores valores obtenidos fueron del testigo donde no se aplicó biol.

Aguado-Santacruz et al. (2012) señalaron que el género *Bacillus* por su diversidad y altos niveles poblacionales, en diversos agroecosistemas agua-suelo-planta ha sido fuente de constantes estudios, para ser utilizado como principal agente de control biológico de enfermedades y plagas en plantas, para proteger o remediar del ataque de patógenos los mecanismos de acción. De acuerdo con Thomashow (1996), los mecanismos de contacto son hiperparasitismo y predación; mecanismos por competencia de espacio y nutrientes (consumo de lixiviados-exudados, producción de sideróforos, inducción a la respuesta sistémica en plantas mediante la producción de fitohormonas y patrones moleculares). Del mismo modo Zalila-Kolsi et al. (2016) señalaron mecanismos de producción de compuestos de bajo peso molecular con efecto directo sobre el crecimiento del patógeno antibióticos (fenazinas, 2,4-diacetilfloroglucinol, lipopéptidos cíclicos), enzimas líticas (quitinasas, glucanasas, proteasas), productos de residuos no regulados (amoníaco, dióxido de carbono, cianuro de hidróxido).

Cobo (2017) en su investigación analizó cuatro diferentes medios líquidos para la inoculación y multiplicación de *Bacillus*, utilizando reactivos que reduce el costo del medio de cultivo. Los medios utilizados son: 1) de levadura activada, 2) medio enriquecido con un subproducto de lacto-suero, 3) leche con azúcar enriquecido con minerales, 4) medio de cultivo de soya fortificada. El medio con mayor valor poblacional fue a base de bebida fortificada de soya obtuvo el valor superior de unidades formadoras de colonia (UFC) de 3.07×10^{12} UFC/ml de medio de cultivo líquido, debido a que este contiene elevados porcentajes de proteínas alrededor de 40% y un 35% de carbohidratos.

Corrales et al. (2014) determinó que el género *Bacillus* tiene la capacidad solubilizadora de fosfatos, se calculó de forma cualitativa por observación de la formación del halo en el medio y su capacidad solubilizadora mediante la medición del mismo. La relación del halo y el índice de solubilización indican procesos de producción de fosfatasas, fitasas y ácidos orgánicos, así como la acidificación del medio dada por la disminución del pH. En relación con la formación de colonias por otras bacterias capaces de solubilizar fósforo *Bacillus* es más agresiva en formación de halos. En las 24 y 48 horas de incubación, los halos de máximo diámetro 18 mm, y 48 horas con un diámetro de 20 mm.

Sauka y Benintende (2008) afirma que *Bacillus thuringiensis* tiene la capacidad para fermentar hidratos de carbono como glucosa, N-acetil-glucosamina, almidón, ribosa, maltosa, glucógeno, fructosa, esculina y trealosa, de hidrolizar gelatina. La cualidad de más importancia es la producción de la proteína Cry (siglas en inglés, Crystal) siendo dicha proteína utilizada como la base para el control de insectos que se produce a nivel mundial.

Martínez et al. (1985) demostraron que *Bacillus laterosporus* es un agente controlador de larvas del lepidóptero de *Ocnogyna baetica*, los resultados observados en primer instancia fue un 30% de mortalidad entre los días 5-11 de inoculación, las larvas que no fueron infectadas formaron pupas de menor tamaño al testigo sin embargo un 25% murieron cortas semanas después de la inoculación.

Los biofertilizantes en la producción agrícola muestran una respuesta positiva en el incremento del rendimiento en 11% en la producción, considerables estudios han demostrado que la inoculación de *Bacillus* spp. Promueve el crecimiento de las plantas, un aumento en la emergencia de las plantas, vigor, biomasa, desarrollo del sistema radical e incremento en el rendimiento en diferentes proporciones. La producción y aplicación de biofertilizantes enriquecidos con microorganismos benéficos en cualquier sistema de producción agrícola aportaría innumerables beneficios evitando un impacto nocivo sobre la alimentación y el ambiente (Grageda-Cabrera et al., 2018).

Corrales Ramírez et al. (2017) demostraron que el género *bacillus* produce fitasas alcalinas, para ello es necesario que el pH de desarrollo sea neutro o básico con valores que oscilan (6-7) y temperaturas de 70°C lo que le otorga termo-resistencia. Evidenciaron que el

aumento de fósforo a partir de las fitasas microbianas mejora las concentraciones de elementos primarios y secundarios, metales tales como Zn, Cu, Fe, Mn, elementos secundarios Ca, Mg de forma directa o indirecta. La producción de fitato evita la acción de enzimas proteolíticas de tal manera que retiene azúcares que son utilizadas para producir energía en el proceso de fotosíntesis.

1.3 Objetivos

Objetivo general

- Analizar la compatibilidad y el tiempo de sobrevivencia de tres tipos de bacterias del género *Bacillus* de uso agrícola, en bioles.

Objetivos específicos

- Identificar el número de ufc. (unidades formadoras de colonia) de los microorganismos benéficos inoculados para mejoramiento de Bioles a los 30 - 60 y 90 días.
- Determinar la mejor compatibilidad y el tiempo de sobrevivencia de las bacterias benéficas (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus laterosporus*) de uso agrícola en bioles.
- Identificar los diferentes microorganismos presentes en los bioles.

1.4 Categorías fundamentales

1.4.1 Variable dependiente (Microorganismos benéficos de diferentes especies)

Los microorganismos eficientes contienen especies seleccionadas en las cuales se incluyen poblaciones predominantes de bacterias ácido láctico, levaduras y un número más pequeño de bacterias fotosintéticas. Todos estos compatibles mutuamente unos con otros y capaces de coexistir en un cultivo líquido (Romero y Vargas (2017).

Una opción biológica para el control de plagas y enfermedades, que causan pérdidas en la producción agrícola es la manufactura artesanal anaeróbica de biol inoculando de microorganismos benéficos, adición de plantas aromáticas, minerales y estiércol de animales (Díaz (2017).

Tabla N° 1 Clasificación taxonómica de las bacterias del género *Bacillus*

Dominio:	Bacteria	Bacteria	Bacteria
Filo	Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes
Clase	Bacilli	Bacilli	Bacilli
Orden	Bacillales	Bacillales	Bacillales
Familia	Bacillaceae	Bacillaceae	Bacillaceae
Género	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>
Especie	<i>B. subtilis</i>	<i>B. thurigiensis</i>	<i>B. laterosporus</i>

Elaborado por: Rodríguez, P.

Fuente: Fritze (2004), Sauka y Benintende (2008), Reinoso et al. (2007)

1.4.2. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis es una bacteria Gram positiva, Catalasa-positiva, aerobio facultativo, comúnmente encontrada en el suelo. *B. subtilis* tiene la habilidad para formar una resistente endospora protectora, permitiendo al organismo tolerar condiciones ambientalmente drásticas. También provee un control efectivo de enfermedades causadas por hongos y bacterias (Fritze, 2004).

Acción fitosanitaria:

Biofungicida enemigo natural de muchas enfermedades fúngicas (*Oídium*, *Stemphylum*, *Mildiu Botrytis*, *Alternaria* sp., *Colletotrichum*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Fusarium*).

Aspecto.- Líquido de color café. pH.- 5.5 a 7.0

Preservación del Producto: en refrigeración a 4 grados celcius.

Cultivos Varios: Tomate riñón, tomate de árbol, arveja, papa, col, lechuga, ajo, cebolla mora, babaco, pastos, flores, banano, sandía, pimiento, maracuyá, melón, naranjilla, caña de azúcar.

1.4.3. *Bacillus thuringiensis*

Sauka y Benintende (2008) describen que el tamaño del flagelo de *Bacillus thuringiensis* aproximadamente mide de 3 – 5 µm de largo y 1.2 de ancho, se desarrolla en medios anaeróbicos, sus esporas son elipsoidales y resistentes. La producción de enzimas ayuda a la fermentación de hidratos de carbono; trealosa, fructosa, ribosa, glucosa maltosa, y por procesos de hidrólisis el almidón, gelatina, esculina y glucógeno.

Acción fitosanitaria:

Insecticida, bioprotector, fungicida foliar, inhibe el crecimiento de fitopatógenos, bioestimulador del sistema radicular y crecimiento vegetal. Aspecto.- Líquido de color café pH.- 5.5 y 7.0

Preservación del Producto: en refrigeración a 4 grados celcius.

Cultivos Varios: hortalizas, frutales, ornamentales, industriales, etc.

1.4.4. *Bacillus laterosporus*

Bacillus laterosporus son bacterias productoras de sustancias con actividad antimicrobiana y caracterizados como dipéptidos, péptidos cíclicos y lipopéptidos de bajo peso molecular, que poseen actividad antifúngica y/o antibacteriana (Martínez et al., 1985).

Acción fitosanitaria:

Insecticida, bioprotector, fungicida foliar, inhibe el crecimiento de fitopatógenos, bioestimulador del sistema radicular y crecimiento vegetal. Aspecto: Líquido de color café pH.- 6.0

Preservación del Producto: en refrigeración a 4 grados celcius.

Cultivos Varios: hortalizas, frutales, ornamentales, industriales, etc.

El proceso de reproducción y supervivencia de los microorganismos, en un medio líquido (biol) obtenido de forma artesanal, mediante la utilización de un bio-digestor con tapa hermética para evitar la contaminación del medio de cultivo. Se da más énfasis a la producción orgánica y a la utilización de microorganismos como alternativa para el control de agentes que causan pérdidas a la producción agrícola y demanda de alimento. Es necesario investigar el proyecto apoyados en la información bibliográfica (Gómez et al., 2015).

Existe poca información sobre compatibilidad de microorganismos benéficos para la agricultura, en el caso de la investigación microorganismos de género *Bacillus*.

Variable dependiente

Evidenciar la dinámica de desarrollo poblacional entre el tratamiento y la dosis de inoculación, tomando en cuenta el desarrollo fenológico de las bacterias y el número de ufc (unidades formadoras de colonia).

El crecimiento demográfico desmedido ha ocasionado que la producción de alimento utilice habitualmente y sin control pesticidas ocasionando daños a la salud, contaminación de recursos. Debido a esto buscamos sistemas agrícolas sostenibles con alternativas biológicas, bajo costo y evitando la contaminación. Optimizando recursos y formando un equilibrio entre los ecosistemas (Altieri 2001).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

Ubicación:

Campus del Consejo Provincial del cantón de Píllaro, que está ubicado en las coordenadas geográficas 1°10'S 78°32'O.

Factores en estudio:

- Ingrediente activo de *Bacillus* spp.
- 2700 ml de *Bacillus thuringiensis* ($2,5 \times 10^9$ upc/ml)
- 2700 ml de *Bacillus subtilis* ($2,5 \times 10^9$ upc/ml)
- 2700 ml de *Bacillus laterosporus* ($2,5 \times 10^9$ upc/ml)

Manejo del Experimento

Preparación del biol

Insumos para la preparación del biol

Se utilizaron 25 kg de estiércol de animales (bovino), 2,5 kg de hierbas aromáticas de la zona (*Ambrosia peruviana*, *Chamaemelum nobile*) 2,5 kg de hierbas de leguminosas frescas (*Medicago sativa*, *Phaseolus vulgaris*, *Vicia faba*, *Lupinus mutabilis*), 200 gramos ($ZnSO_4$) de sulfato de zinc, 200 gramos de bórax, 200 gramos ($MgSO_4$) gramos de sulfato de magnesio, 200 gramos (S) de azufre, 100 gramos ($FeSO_4$) sulfato de hierro, 1kilo ($CuSO_4$) sulfato de cobre, 2 kilos (K_2SO_4) sulfato de potasio, 1 kilo ($CaCO_3$) carbonato de calcio, 2 kilos de roca fosfórica, 1 kilo de levadura de pan, 30 litros de melaza.

Preparación del biol

- Colocar en un tanque con tapa hermética 200 litros de agua limpia.
- Añadir en un costal 25 kilos de excremento fresco de animales, 5 kilos de plantas picadas completas de leguminosas, 2,5 kilos de hierbas picadas completas aromáticas, cerrar bien y colocar dentro del tanque con agua.
- Añadir de forma separada 1 kilo ($CaCO_3$), 1kilo ($CuSO_4$), 1 kilo de levadura de pan granulado, 30 litros de melaza y remover hasta disolver los reactivos.

- Adicionamos de forma individual, ordenada, uno cada día los siguientes reactivos y disolver si es necesario:
- 2 kilos de roca fosfórica
- 2 kilos sulfato de potasio (K_2SO_4)
- 200 g de bórax
- 200 g azufre (S)
- 100 g sulfato de hierro ($FeSO_4$)
- 200 g sulfato de magnesio ($MgSO_4$)
- 200 g sulfato de zinc ($ZnSO_4$)
- Evitar la contaminación del biol, tapar herméticamente.
- Por un periodo de 30 días dejamos fermentar, filtramos el biol.
- Colocar en 12 recipientes 20 litros del biol y añadir las bacterias *Bacillus subtilis* + *Bacillus thuringiensis* + *Bacillus laterosporus* en las tres dosis (50, 100 y 150 ml).

Variables respuesta

- Se contabilizó el número de ufc. y compatibilidad las bacterias del género *Bacillus* a los 30, 60 y 90 días después de la inoculación de los microorganismos.

Para el aislamiento y cuantificación de *Bacillus subtilis* y *Bacillus laterosporus* se utilizó medio de cultivo agarizado selectivo que consta de azúcar, KH_2PO_4 (fosfato diácido de potasio), Na_2HPO_4 (fosfato ácido de sodio), NH_4NO_3 (nitrato de amonio), $CaCl_2$ (Cloruro de calcio), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (Sulfato de magnesio), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (Sulfato ferroso) y sodio EDTA.

Para el aislamiento y cuantificación de *Bacillus thuringiensis* se utilizó medio de cultivo Luria Bertani que consta de: Cloruro de sodio NaCl, Extracto de levadura, Peptona de caseína (DIBICO S.A., 1972). Para el tratamiento de cada una de las muestras se utilizó la técnica recuento por dilución.

Esta técnica permite evaluar diferentes grupos bacterianos, es aplicable para evaluar bacterias heterotróficas, aerobias totales, bacterias reductoras de sulfato, anaerobias heterotróficas totales (Corral-Lugo et al. 2012).

La técnica de dilución por extinción consiste en inocular una serie de frascos tipo antibiótico que contiene el medio de cultivo apropiado según el tipo de bacteria que se quiera evaluar. Se obtiene 1 ml de la muestra usando una jeringa descartable, estéril, de 1 o 2 ml de capacidad. Se inocular el primer frasco, sin retirar la aguja se agita el mismo, se invierte y se retira 1 ml que se inocular en el 2° frasco.

Con una nueva jeringa, se retira 1 ml del frasco N° 2, previamente agitado, y se inocular el frasco N° 3 y así sucesivamente, utilizando una nueva jeringa para cada frasco (Olguín, 2014).

Se utilizó un contador de colonias de campo oscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadrada y lente amplificador: Está diseñado para el conteo rápido y preciso de las colonias de bacterias y moho en placas de cultivo. Permite el conteo de las colonias por cada pulsación del contador quedando grabado en la pantalla digital (Ramírez S et al., 2017).

Toma de muestras

Se tomó una muestra de 100 ml de cada tratamiento, en recipientes plásticos y esterilizados, se envió para el análisis microbiológico y químico en la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo ESPOCH, donde se cuantificó el número de ufc (unidades formadoras de colonia).

Tabla N° 2 Distribución de los tratamientos Tabla 2. Distribución de los tratamientos

Tratamiento	Descripción	Índice x c/20l. de biol
1	<i>Bacillus subtilis</i>	T1= 50 ml
2		T2= 100 ml
3		T3= 150 ml
1	<i>Bacillus thurigiensis</i>	T1= 50 ml
2		T2= 100 ml
3		T3= 150 ml
1	<i>Bacillus laterosporus</i>	T1= 50 ml
2		T2= 100 ml
3		T3= 150 ml
1	Testigo	T0= sin aplicación
2		T0= sin aplicación
3		T0= sin aplicación

Elaborado por: Rodríguez, P. Fuente: (Rodríguez, P (2021)

Descripción de los tratamientos:

- **T1:** 50 ml de *Bacillus subtilis* + 50 ml *Bacillus thurigiensis* +50 ml *Bacillus laterosporus*, por cada 20 litros de biol.
- **T2:** 100 ml de *Bacillus subtilis* + 100 ml *Bacillus thurigiensis* + 100 ml *Bacillus laterosporus*, por cada 20 litros de biol.
- **T3:** 150 ml *Bacillus subtilis* + 150 ml *Bacillus thurigiensis* +150 ml *Bacillus laterosporus*, por cada 20 litros de biol. □ **T0:** Testigo no se incluyó ningún microorganismo benéfico.

Diseño Experimental:

Utilizamos el diseño experimental bloques completamente al azar (DBCA), tres repeticiones y un testigo. Se usó el programa estadístico Statistix 10.0. Todos los valores obtenidos fueron utilizados para análisis estadístico y comparadas por Prueba de medias según Tukey ($p < 0,01$).

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla N° 3 Valores promedios de pH por tratamientos

Tratamiento	30 días inoculación	60 días inoculación	90 días inoculación	Desviación Estándar
T1	6,5	5,8	6,2	0,4
T2	6,1	5,5	5,8	0,3
T3	5,4	5,4	5,4	0,0
T0	5,4	5,5	5,5	0,1

Elaborado por: Rodríguez, P.

Fuente: Rodríguez, P (2021)

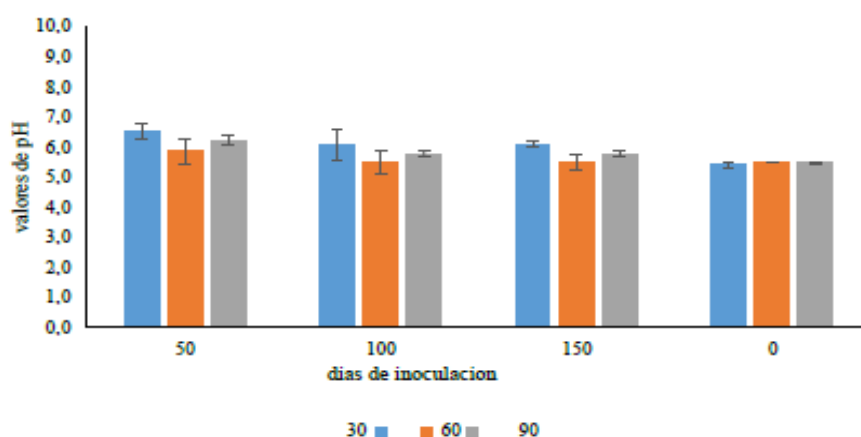


Figura N° 1 Valores promedios de pH por tratamientos

Los valores de pH van desde el mayor valor en el T1. 6,5 (tabla 3) a los 30 días de inoculación, el tratamiento 3 (T3) con dosis de 150 ml. mantuvo pH de 5,4 en los tres meses de análisis. El tratamiento con 50 ml. de inoculación (T2) obtuvo el mayor valor a los 30 días de inoculación de 6,1 y disminuyó ligeramente a los 60 días de evaluación.

Los valores de pH en el testigo mantienen valores similares en un rango ligeramente ácido, existe poca variación de la variable pH.

Los resultados obtenidos permiten determinar que la dinámica del pH en el tratamiento de 50 ml. (T1) de inoculación disminuye ligeramente a los 60 días de evaluación y a los 90

días de evaluación incrementa su valor, demostrado por (Lamprecht, 2012) en su investigación donde el pH después de la inoculación tiende a disminuir por que las bacterias en su fase de multiplicación secretan toxinas, enzimas acidificantes de la solución.

Ramos Vázquez Zúñiga Dávila, (2008) en su investigación a nivel de laboratorio determinaron que con un pH cercano a neutro 7,8 existe mayor formación de UFC. Es así como la mayor población de UFC. que alcanzó *B. subtilis* fue cuando el valor de pH fue cercano a neutro.

(Estrada et al., 2019) determinó la presencia de toxinas que secreta *Bacillus* en su fase de multiplicación, su modo de acción vía antibiosis es decir afectando la interacción biológica con la relación del organismo que es perjudicial, por la competencia de diversos nutrientes, sitios de exclusión e infección.

3.2. Análisis de ufc. (Unidades formadoras de colonia) por tratamientos a (30 días de inoculado las bacterias).

Tabla N° 4 Valores promedios de ufc por tratamientos (30 días de inoculado)

Tratamiento	<i>B. subtilis</i>	<i>B. thurigiensis</i>	<i>B. laterouporus</i>	Desviación estándar
50 ml	186666,7	2173333,3	316666,7	121243,6
100 ml	276666,7	286666,7	213333,3	1034780,3
150 ml	36666,7	1966666,7	366666,7	78197,3

Valores promedios de las ufc. (Unidades formadoras de colonia) 30 días inoculado

Fuente: Elaborado por: Rodríguez, P. (2021)

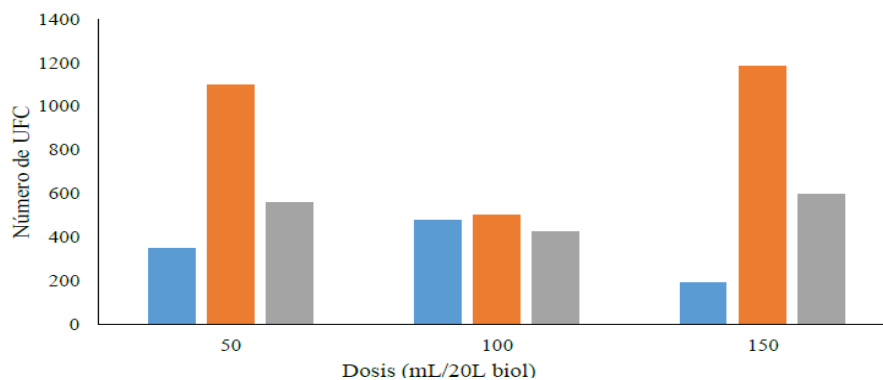


Figura N° 2 Número de UFC de las bacterias mililitro a los 30 días

Los valores de ufc (unidades formadoras de colonia) adquiridos a los 30 días de inoculación, observamos esquematizados en la (fig. 2), demuestran que el biol utilizado favoreció para la proliferación de las bacterias benéficas. Se resalta la capacidad de sobrevivencia entre los tres géneros de bacterias, consiguiendo valores medios poblacionales de upc.

En el tratamiento (T3), identificamos que el menor valor promedio de ufc tiene *B. subtilis* 36666,7 y *B. thuringiensis* alcanza el mayor valor en el (T3) con 1966666,7 ufc., en el tratamiento testigo (T0) observamos la presencia de microorganismos sin identificarlos en menor cantidad respecto a los tratamientos con *Bacillus*. De acuerdo con los datos obtenidos, exponemos que *B. thuringiensis* y *B. laterousporus* incrementan su población a mayor dosis T3 150ml, mientras que *B. subtilis* su mayor número poblacional obtuvo con el tratamiento T2 100 ml con 276666,7 ufc.

El comportamiento poblacional ufc. en (T2), las tres bacterias mantienen valores semejantes, no existe prevalencia de ufc.entre ellas.

Los 3 tipos de *Bacillus* se encuentran en niveles poblacionales medias.

3.3. Análisis de ufc. (Unidades formadoras de colonia) por tratamientos a (60 días de inoculado las bacterias)

Tabla N° 5 Valores promedios de ufc por tratamientos (60 días de inoculado)

Tratamiento	<i>B. subtilis</i>	<i>B. thuringiensis</i>	<i>B. laterouporus</i>	desviación estándar
50 ml	3400000,00	2133333,3	933333,3	121243,6
100 ml	410000,00	300000,0	2733333,3	2368856,6
150 ml	273333,33	5000000,0	9333333,3	4422668,9

Elaborado por: Rodríguez, P. (2021)

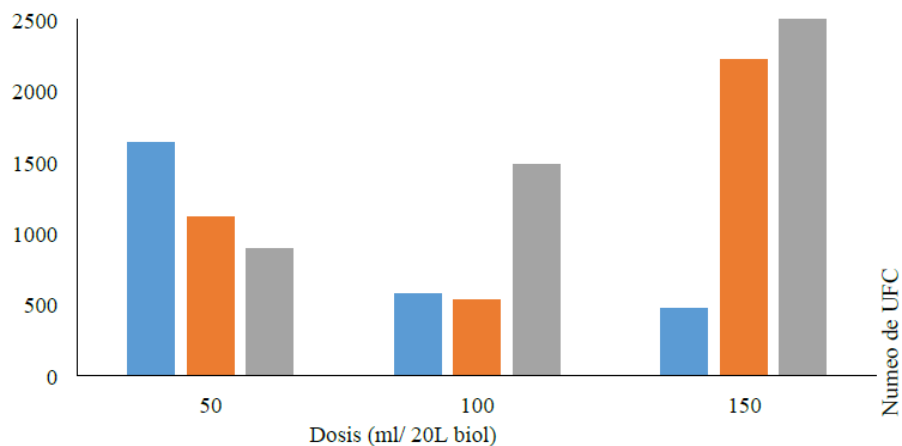


Figura N° 3 Por cada mililitro de microorganismos a los 60 días

Los resultados obtenidos a los 60 días de inoculación indican que las bacterias mantuvieron niveles poblacionales altos, tomando una dinámica exponencial de supervivencia *B. laterosporus*, en el (T1), (T2) y (T3), *B. thuringiensis* alcanza un total de 5000000,0 ufc. en (T3), mientras que *B. laterosporus* 9333333,3 ufc. (Tabla 5), relacionando con los valores obtenidos del (T2) *B. laterosporus* incrementa 1482,4 ufc (Tabla 5) y *B. thuringiensis* disminuye 533,8 ufc, determinado su nivel de desplazar por competencia a otros microorganismos, sin embargo, se mantienen sus niveles poblacionales. Por otra parte *B. subtilis* en el (T1) obtiene un valor alto de 3400000,00y su población disminuye en (T2 – T3), pero su población se mantiene (fig.3)

De acuerdo con los resultados podemos expresar que a los 60 días de inoculación las bacterias tienen una dinámica de supervivencia por competencia por espacio y nutrientes como evidenciamos en los valores. (Ochoa et al., 2010)

3.4. Análisis de ufc. (Unidades formadoras de colonia) por tratamientos a (90 días de inoculado las bacterias).

Tabla N° 6 Valores promedios de ufc por tratamientos (60 días de inoculado)

Tratamiento	<i>B. subtilis</i>	<i>B. thuringiensis</i>	<i>B. laterosporus</i>	desviación estándar
50 ml	20300000,00	54000000,0	20133333,3	121243,6
100 ml	436666,67	25733333,3	20666666,7	15311143,4
150 ml	400000,00	29666666,7	27333333,3	4011834,3

Elaborado por: Rodríguez, P. (2021)

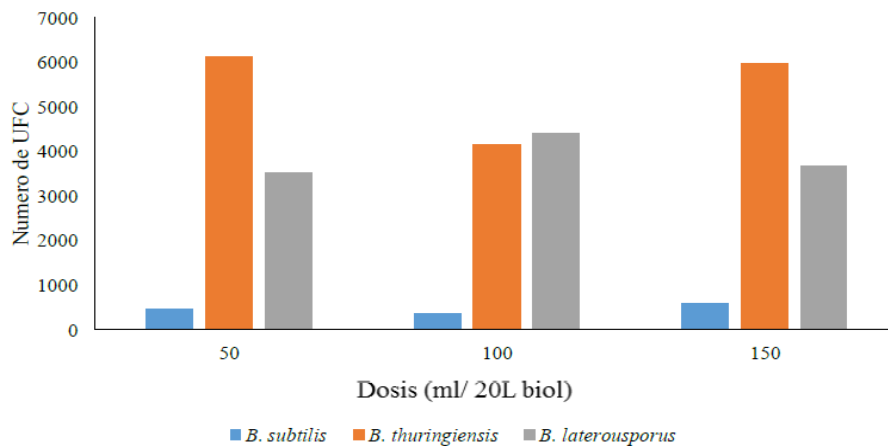


Figura N° 4 Ufc de las diferentes especies de Bacillus por cada mililitro de microorganismos a los 90 días

Los mayores valores de ufc. a los 90 días oscilan entre *B. thuringiensis* con valores de ufc 54000000,0 en el (T1) y *B. laterosporus* en el (T2). *B. subtilis* mantuvo una población media y su mayor valor fue 593,1 en T3, y su menor valor fue 360,1 en (T2) ,(Carlos et al., 2005) en su estudio determino que cepas de una misma especie, pueden mostrar diferentes capacidades para inhibir el crecimiento poblacional de otros microorganismos entre ellas la producción de toxinas, competencia por nutrientes, la capacidad y velocidad de reproducirse en diferentes medios.

Se ha determinado que *B. subtilis* necesita de los cationes de Mn, Fe, Mg, y Zn como factores determinantes en el crecimiento y la producción de metabolitos disueltos en el medios de cultivo a concentraciones milimolares. (Ariza & Sánchez, MSc., 2012)

(Brock, 1993) Determina que el crecimiento de *B. subtilis* es de manera exponencial, se multiplica presurosamente hasta alcanzar números altos de ufc. de reproducción, a continuación, pasa a una fase estacionaria en la se detiene el crecimiento pero mantiene

uniforme su reproducción hasta llegar a la muerte, su proceso fisiológico a diferencia de otras bacterias es menor en tiempo.

Identificamos que la dinámica de crecimiento y desarrollo de los tres géneros de *bacillus* son distintos, *bacillus subtilis* pasa por un proceso de crecimiento exponencial mientras que *B. thuringiensis* y *B. laterosporus* su crecimiento es progresivo tiende a incrementar su población.

Análisis microbiológico de biol

Tabla N° 7 Análisis microbiológico del biol antes del inocular bacterias

Hongos	Ufc	Población
<i>Fusarium</i> sp.	2,0 x 10 ³	2.000
<i>Penicillium</i> sp.	1,0 x 10 ⁴	10.000
<i>Rhizopus</i> sp	3,0 x 10 ²	3.000
<i>Aspergillus</i> sp.	1,0 x 10 ³	1.000
<i>Verticillium</i> sp.	1,0 x 10 ⁵	100.000

Fuente: ESPOCH Upc: unidad propagadora de colonia Ufc: unidad formadora de colonia

***Fusarium* sp.** Es un extenso género de hongos filamentosos. La mayoría de las especies son saprófitas y viven en materia orgánica en descomposición, tiene la capacidad de proliferarse a 37°C. Existen más 100 especies descritas (Tapia & Amaro, 2014).

Algunas especies del género *Fusarium* son benéficas en la agricultura y se han utilizado en el control biológico de ciertas enfermedades causadas por especies patogénicas (Morales-morales et al., 2014).

Las estructuras no patógenas de *Fusarium oxysporum* se encuentra en diversos tipos de suelo dado a que necesita una mínima cantidad de nutrimentos del medio para germinar sus esporas resultando ser más competitivas en niveles poblacionales. (NELSON, 1990)

Aspergillus sp es un hongo filamentoso hialino, saprofito que causan el deterioro de muchos productos alimenticios, producen micotoxinas que son metabolitos secundarios producidos y secretados por el hongo durante el proceso de degradación de la materia orgánica. (Sobrero et al., 2013)

(Kozakiewicz, 1989) enuncia que las micotoxinas que produce *Aspergillus* son termorresistentes, aunque el tratamiento con calor disminuye su nivel de toxicidad. Los teleomorfos poseen meiosporas en ascos que pueden producirse en racimos desnudos o dentro de ascomas. Éstos tienen una pared formada por hifas sueltas, un plecténquima o un tejido estromático.

Rhizopus hongos filamentosos que puede crecer y desarrollarse en una amplia gama de temperaturas y humedades relativas. Su rápida velocidad de crecimiento le permite colonizar la superficie de los productos agrícolas (Niurka et al., 2006)

Entre sus características particulares, se encuentran la formación de micelio aéreo carente de septos y la producción de esporangióforos que presentan en sus puntas esporangios esféricos donde se alojan las esporangiosporas, las cuales muestran diferentes formas: globosas, elipsoidales y angulares con superficies lisas o estrías distintivas (Velázquez et al., 2008).

Penicillium sp: (Flores-Gallegos, 2014) describen que son hongos filamentosos, que están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se hallan en el suelo, la vegetación caída, el aire y el suelo. Se ha demostrado que *Penicillium* es un eficiente solubilizador de fosfatos gracias a que produce ácidos orgánicos, disminuye el pH del suelo, produce enzimas, quelata iones de la solución del suelo.

León et al. (2015) determinan que existen especies de *Penicillium* que favorecen a la solubilización de fosfatos bajo un sistema de fermentación o de aplicación directa al suelo como biofertilizante, ciertas especies de *Penicillium* toleran altas concentraciones de sal de un 20% y pueden desarrollarse en un rango de pH de 3.0 hasta 12.0 (Vilanova Torren, 2014). *P. purpurogenum* y *P. raistrickii* tienen la capacidad de tolerar pH de 1.5 y 2.0 teniendo

mayor potencial de utilizarlo como agente conversor de fosforo inorgánico a fosforo soluble y asimilable para las plantas, poseen un alta tolerancia a pH ácidos o básicos.

De acuerdo con Vilanova Torren (2014), la excreción de ácidos orgánicos como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido glicólico, ácido succínico provoca la disminución del pH. Otras forma de incrementar fosforo asimilable es mediante la quelación de Ca, Al y Fe, causando reacciones de cambio y solubilización de sales poco solubles. La fitasa, nucleasa, fofatasa, fosfonatasa son enzimas de reacción hidrolíticas estas liberan los aniones de fosfato presentes en la solución del suelo.

Verticillium sp: Cavallazzi et al. (1998) anuncian que el género suele incluir especies saprófitas y parásitas de plantas superiores, insectos, nematodos, huevos de moluscos y otros hongos. Las ordenes de insectos que tiene efecto parasitario son Homóptera, Coleóptera, Collembola, Díptera y Lepidóptera.

Velez y Rosillo (1995) confirmaron que el extracto metabólico de *Verticillium lecanii* afecto drásticamente el proceso de germinación de las urediniosporas de roya *Puccinia graminis*. Estos ensayos en invernadero y laboratorio aplicando a una concentración de 30×10^5 ufc/ml. Por cada árbol de café *coffea arábica*, 48 horas antes de inocular el hongo Fito patógeno, actuando como un protector prolongado disminuyendo del hasta un 60 % de la población de *Puccinia graminis* En cada tratamiento evidenciaron el efecto protector de dicho extracto contra la infección por roya.

Todos los géneros de microorganismos encontrados son saprófitos y se encuentran en niveles poblacionales medios y altos.

Tabla N° 8 Análisis microbiológico del biol después de cultivar las bacterias 90 días de inoculación

Microrganismos	Ufc	Upc	Población
Streptomyces	8.0 x 10 ⁶	Upc/ml del sustrato	800.000
Levaduras	1.0 x 10 ⁵	Upc/ml del sustrato	100.000
Bacterias	4 x 10 ⁷	Ufc/mL de sustrato	40.000.000

Fuente: ESPOCH

Upc: unidad propagadora de colonia

Ufc: unidad formadora de colonia

Streptomyces:

Sastoque-Cala. et al. (2007) anuncian que *Streptomyces* son bacterias grampositivas procariontas de características saprofitas y de crecimiento filamentosas, producen una gran variedad de enzimas, terpenoides, pigmentos. Por otra parte, hidroliza varias moléculas complejas como son celulosa, quitina, xilano.

GONZÁLEZ JIMÉNEZ (2010) determina que *Streptomyces* son abundantes y se desarrollan en diferentes hábitat, como suelo, agua, y estiércol de animales; son aerobios viven en el horizonte superficial del suelo, aunque en suelos con pH alcalino podemos encontrarlos en horizontes inferiores.

Sandro y Patrick (2019) demostraron que género *Streptomyces* sp. se es un inductor del incremento del tamaño de la raíz, tiene la capacidad de sintetizar AIA, metabolito que influye en el aumento del número y tamaño de las raíces. Se utilizaron 11 diferentes cepas del *Streptomyces*, resultando que 8 cepas tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, *Streptomyces cirratus* se expone como un potencial agente de estudio molecular capaz de fijar nitrógeno atmosférico. Las siguientes cepas estudias tienen la capacidad de promover el crecimiento vegetal *Streptomyces cirratus*, (ST3E), *Streptomyces* sp (ST2A), *Streptomyces* sp (ST8A) y *Streptomyces* sp (ST8B).

Los niveles de unidades formadoras de colonias (Ufc) de *Streptomyces* son altos.

Levaduras:

Las levaduras del género *Saccharomyces* son microorganismos que utilizan diversas fuentes de desarrollo como el carbono (glucosa, sacarosa, fructosa, galactosa, maltosa) y energía. *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida utilis*. Las levaduras no pueden procesar el nitrógeno en forma de nitratos ni nitritos por lo cual requiere fuentes de nitrógeno urea, sales de amonio y aminoácidos (Fayemi y Ojokoh, 2014).

Levaduras: bacterias que utilizan sustancias que producen las raíces de las plantas y otros materiales orgánicos, para sintetizar vitaminas y activar otros microorganismos del suelo (hongos) (Higa, 2013).

Por otra parte, las levaduras producen metabolitos secundarios antimicrobianos partiendo de carbohidratos y aminoácidos los cuales son segregados por bacterias productoras de fotosintatos. Estas levaduras se encargan de generar enzimas y hormonas que pueden ser procesadas por bacterias ácido lácticas. En el proceso fermentativo estas son capaces de producir etanol, molécula cuya alta concentración genera actividad antifúngica (Meena y Meena, 2017).

Los microorganismos rizosféricos, resultan ser beneficiosos para los sistemas suelo-planta debido a que estimulan la germinación de las semillas, promueven el enraizamiento, incrementan el suministro y disponibilidad de nutrientes, mejoran la estructura del suelo, y protegen a las plantas frente a estreses bióticos y abióticos (Franco Correa et al, 2010).

Argumento del análisis microbiológico del biol

Observamos en el primer análisis microbiológico la presencia de hongos saprofitos como son *Fusarium* sp, *Penicillium* sp, *Rhizopus* sp, *Aspergillus* sp., *Verticillium* sp. No se realizó la identificación por géneros, por tanto, no se puede determinar si son benéficas o patógenas, se encuentran en niveles poblacionales medios y altos.

El análisis microbiológico a los tres meses de inoculación de las bacterias del género *Bacillus* evidenciamos que los hongos encontrados en el primer análisis fueron eliminados del biol, y se evidencio la presencia de nuevos microorganismo benéficos *Streptomyces*, Levaduras, bacterias en niveles altos de unidades formadoras de colonias, se puede inducir

que la presencia de las bacterias del género *Bacillus* controlaron la población de hongos y que *Streptomyces*, Levaduras tienen afinidad para mantener sus poblaciones altas en presencia de las bacterias del género *Bacillus*.

La importancia de la presencia de microorganismos eficientes nos ayuda a restablecer el equilibrio microbiológico del suelo, mejorando las condiciones fisicoquímicas, incrementado el rendimiento de la producción de los cultivos y la protección ante patógenos.

Existen varias cualidades beneficiosas que manifiestan los EM (Microorganismo eficientes), permiten el control de insectos lepidópteros en estados larvales en cultivos perennes y anuales sin afectar a insectos benéficos, fitofortificante, inductor de resistencia sistémica y activación de autodefensas de la planta y cultivos frente a condiciones bióticas adversas causadas principalmente por hongos Fito patógenos. Las acciones fitosanitarias principales son insecticidas, bioprotector, fungicida foliar, inhibe el crecimiento de fitopatógenos, bioestimulador del sistema radicular y crecimiento vegetal.

Una alternativa como biofertilizante y el aprovechamiento de los microorganismos que causan un impacto positivo en el medio ambiente y encaminar más la relación simbiótica entre las bacterias benéficas y la planta, ante la necesidad de evitar la contaminación y destrucción del medio ambiente, evitando el uso excesivo de agroquímicos así tener bajos costos de producción y una rentabilidad económica, teniendo un enfoque agro ecológico para mantener el equilibrio microbiológico y evitar la pérdida de la producción por la multiplicación de plagas y enfermedades.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

El análisis de compatibilidad y tiempo de sobrevivencia de tres bacterias *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. laterosporus*, con datos medios en laboratorio a los 30 – 60 y 90 días podemos considerar que existe coexistencia entre las especies durante el tiempo determinado. El primer análisis a los 30 días de inoculado no se observó efecto entre la dosis aplicada y la población de las bacterias. Las bacterias se encuentran en niveles poblacionales medios.

En el segundo análisis encontramos efecto entre la dosis y el número de UFC. de las bacterias obteniendo el mayor valor poblacional de *Bacillus subtilis* 1639,8 con el tratamiento T1 (tabla 8). Y valores altos y medios de *B. thuringiensis* *B. laterosporus* reflejando su capacidad de competencia poblacional ante otros microorganismos.

Concluimos que existe compatibilidad entre las bacterias del género *Bacillus* en el biol, siendo que el tratamiento 3 (T3) con dosis de 150 ml. de cada bacteria a los 90 días de inoculado mantiene la mayor concentración de UFC.

4.2. RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos nos permiten determinar que el biol obtenido es un biofertilizante, biofungicida y bioinsecticida, que se puede realizar de forma artesanal, con el objetivo de mejorar y potencializar técnicas para la producción agroecológica.

Recomendamos realizar nuevos análisis verificando las poblaciones a los 80 – 90 días de inoculación a diferentes valores de pH y concentraciones de macro y micronutrientes necesarios para el desarrollo de los microorganismos.

Se recomienda utilizar para el control eficiente de insectos en estado larvario en cultivos anuales y perennes, sin afectar a insectos benéficos, favorece al cultivo como un Fito fortificante inductor de resistencia sistémica y activación de autodefensas frente a condiciones bióticas adversas. Aplicar de forma preventiva o cuando se detecta los primeros síntomas de infección del patógeno.

Se recomienda aplicar en los cultivos, el biol enriquecido con tres microorganismos a los 90 días de fermentación, por cuanto la carga microbiana es la más alta. Tener en cuenta una medición continua del pH del biol.

Se recomienda aplicar de 1.5 a 2.0 litros del biol por hectárea. Utilizar agua con un pH entre 5.5 y 7.0. No es compatible con bactericidas, ni con productos desinfectantes del suelo. No utilizar bactericidas al suelo durante cuatro días anteriores o posteriores a la aplicación del biol.

Se recomienda aplicar el biol de forma foliar, por aspersion o goteo, si la aplicación al cultivo es de forma foliar se debe realizar preferiblemente de 6:00 a.m. a 10:00 a.m. y después de las 4 p.m. en caso de que sea aplicado al suelo, podemos aplicar en la preparación del terreno antes de la instalación del cultivo y conjuntamente con la materia orgánica.

Se recomienda realizar estudios similares con otras especies de microorganismos benéficos para la producción agrícola sean hongos o bacterias para contraponer resultados con la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, V., & Koch, A. (2014). Evaluación del crecimiento y valor nutricional de la soya para forraje (glycine max) utilizando Biol como abono obtenido con microorganismos nativos. *Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Carrera de Ingeniería en Biotecnología.*, 111. <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/7943/1/T-ESPE-047753.pdf>
- Agr, I., Rubén, M., Haro, D., Agr, I., Fidel, M., & Aguirre, R. (2013). *Trabajo de investigación Previa a la obtención del Grado Académico de Magister en Agroecología y Ambiente Autor: Director: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO.*
- Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E., & Preciado-Ortiz, R. E. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: Una síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 9-21. <https://doi.org/10.35196/rfm.2012.1.9>
- Altieri, M. (2001). Principios y estrategias para diseñar sistemas agrarios sustentables. *Agroecología. El camino hacia una agricultura sustentable*, 1, 27-34.
- Aparcana, S. (2008). Estudio sobre el Valor Fertilizante de los Productos del Proceso Fermentación Anaeróbica para Producción de Biogás. German ProfEC, GmbH, 10. <https://doi.org/10.3109/08830185.2014.902452> https://www.bertelsmannstiftung.de/fileadmin/files/BSt/Publikationen/GrauePublikationen/MT_Globalization_Report_2018.pdf http://eprints.lse.ac.uk/43447/1/India_globalisation%20society%20and%20inequalities%20.pdf
- Ariza, Y., & Sánchez, MSc., L. (2012). Determinación de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus subtilis* con efecto biocontrolador sobre *Fusarium sp. Nova*, 10(18), 149. <https://doi.org/10.22490/24629448.1003>
- Avila, E., Bautista, D., & Mejía, K. (2014). *Universidad Nacional De San Martin 01/11/2014. 1*, 85.
- Brock, T. & M. M. (1993). *MICROBIOLOGÍA* (6ta Edición).
- Calero Hurtado, A., Quintero Rodríguez, E., Pérez Díaz, Y., González-Pardo Hurtado, Y., & González Lorenzo, T. N. (2019). Microorganismos eficientes y vermicompost lixiviado aumentan la producción de pepino. *Revista U.D.C.A*

Actualidad & Divulgación Científica, 22(2), 1-9.
<https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n2.2019.1167>

Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA DE CEPAS de *Bacillus* spp. AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DE PAPA (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*, 9(1-2), 31. <https://doi.org/10.21704/rea.v9i1-2.393>

Carlos, J., Saúl, R., Eduardo, I., Galindo-flores, H., Martínez-álvarez, J. C., Nava-pérez, E., Nacional, P., Sinaloa, U. S. C., Postal, A., Glorias, L., Cp, M., Dorado, C. C., & Gobierno, S. P. De. (2005). A Saprotrophic Fungal Isolate From Northern Sinaloa, Mexico, with Homology to Members of the Chaetomiaceae Behaves as an Antagonist of Phytopathogenic Fungi in vitro. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(2), 130-139.

Cavallazzi, G., Prieto, A., & Ariza, R. (1998). EVALUACION DEL ENTOMOPATOGENO *Verticillium lecanii* (Zimm) Viega5 EN EL CONTROL DE LA ESCAMA BLANDA *Philephedra tuberculosa* Nakahara & Gil! EN GUANABANA (*Anona muricata* L.)* Evaluation. *Agronomía Colombiana*, 15(2), 106-111.

Charvet, E. (2012). *FACULTAD DE ECONOMÍA Disertación de grado para obtener el título de Economista Análisis comparativo de agricultura orgánica con agricultura convencional - Estudio de caso del cultivo de Brócoli*. 0-106.

<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/5180/T-PUCE-5406.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Cobo, C. (2017). Universidad San Francisco de Quito USFQ Universidad San Francisco de Quito USFQ Evaluación de medios líquidos para la multiplicación de la bacteria *Bacillus subtilis*. *Evaluación de medios líquidos para la multiplicación de la bacteria Bacillus subtilis*, 1, 52.

Corral-Lugo, A., Morales-García, Y. E., Pazos-Rojas, L. A., Ramírez-Valverde, A., & Muñoz-Rojas, J. (2012). Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XIV(2), 147-156.

Corrales, L. C., Sánchez, L. C., Arévalo, Z. Y., & Moreno, V. E. (2014). *Bacillus*: a genus of bacteria that exhibits important phosphate solubilizing abilities. *Nova*, 12(22), 165-178. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v12n22/v12n22a06.pdf>

Corrales Ramírez MSc, L. C., Caycedo Lozano MSc, L., Gómez Méndez, M. A., Ramos Rojas, S. J., & Rodríguez Torres, J. N. (2017). *Bacillus* spp: una alternativa para

- la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *Nova*, 15(27), 45.
<https://doi.org/10.22490/24629448.1958>
- Díaz, A. (2017). Características fisicoquímicas y microbiológicas del proceso de elaboración de biol y su efecto en germinación en semillas. (*Tesis de maestría*), 1, 129.
- DIBICO S.A. (1972). B a c t e r i o l o g { í } a G e n e r a l C a t { á } l o g o 1 2 3 6. *DIBICO*, 1236, 3.
- Estrada, L., Juárez, A., Rabanales, J., Royano, E., De Jesús, M., & Alor, M. (2019). Evaluación bactericida de metabolitos de *Bacillus* spp. aisladas de muestras de suelo. *Journal of Basic Sciences*, 5(15), 12-27.
<http://revistas.ujat.mx/index.php/jobs>
- Félix Herrán, J. A., Sañudo Torres, R. R., Rojo Martínez, G. E., Martínez Ruiz, R., & Olalde Portugal, V. (2008). Importancia de los abonos orgánicos. *Ra Ximhai*, 4, 57-68. <https://doi.org/10.35197/rx.04.01.2008.04.jf>
- Flores-Gallegos, A. (2014). *Penicillium* como solubilizador de fosfato. *April*, 183.
<https://www.researchgate.net/publication/274638201>
- Fritze, D. (2004). Taxonomy of the genus *Bacillus* and related genera: The aerobic endospore-forming bacteria. *Phytopathology*, 94(11), 1245-1248.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1245>
- García, J. E. (2016). Situación Y Perspectivas De La Agricultura Orgánica, Con Énfasis En Latinoamérica. *Latinoamérica*, 37(13), 21.
[http://163.178.108.3/profesores/Garcia Jaime/AGRICULTURA ORGANICA/SITUACION ACTUAL DE LA AO-IX VERSION-MAYO-2005.pdf](http://163.178.108.3/profesores/Garcia%20Jaime/AGRICULTURA%20ORGANICA/SITUACION%20ACTUAL%20DE%20LA%20AO-IX%20VERSION-MAYO-2005.pdf)
- Gliessman-Stephen, R. (2002). Agroecología: Procesos ecológicos en agricultura sostenible. En *Diversidad y estabilidad del agroecosistema*.
- Gliessman, S. R. (2002). *Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible* (AGRUCO-CATIE (ed.)).
- Gómez, L. F., Ríos-Osorio, L., & Eschenhagen, M. L. (2015). Las bases epistemológicas de la agroecología. *Agrociencia*, 49(6), 679-688.
- GONZÁLEZ JIMÉNEZ, Y. (2010). LOS ACTINOMICETOS: UNA VISIÓN COMO PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL YESMYNo Title. *MICROBIÓLOGA AGRÍCOLA Y VETERINARIA PONTIFICIA*, 1, 36.
- Grageda-Cabrera, O. A., Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J. J., & Vera-Nuñez, J. A.

- (2018). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6), 1261-1274. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i6.1376>
- Juncosa, R., & Fernández Castillo, C. (2002). Biopesticidas: ¿la agricultura del futuro? *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, 141, 14-19.
- Kozakiewicz, Z. (1989). *Aspergillus* species on stored products. *CAB International Mycological Institute, Kew, Surrey.*, 161, 188.
- Lamprecht, M. (2012). *PRODUCCIÓN DE DNA EXTRACELULAR EN UNA ESTIRPE NATURAL DE Bacillus subtilis*. 1, 123.
- León, A. F., Cantor, L. F., Pérez, C. D., Rojas, H. E., & Universidad Distrital Francisco José de Caldas. (2015). *Evaluación De Aisladores De Media Tensión Bio- Contaminados*. 1, 1-11. <http://b-dig.iie.org.mx/BibDig2/P15-0395/PDF/AIS-01>.
- Artículo final ALTAE 2015 AISLADORES - PENICILLIUM.pdf
- Martínez, M., Maqueda Gil, M., Valdivia, E., & Palomeque, P. (1985). Estudios preliminares del efecto entomotóxico de *Bacillus laterosporus* frente a larvas de *Ocnogyna baetica* en Jaén. *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, 11(1), 147-154.
- Morales-morales, H. A., Soto-parra, J. M., Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Basurto-Sotelo, M., & Martínez-Escude, E. (2014). *Situación actual en el control de Fusarium spp . y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales*. 1, 12. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358>
- NELSON, P. . (1990). Taxonomy of fungi in the genus *Fusarium* with emphasis on *Fusarium oxysporum*. In *Re.Ploetz(ed.)*, 27-35.
- Niurka, A., Valle, V., Gerardo, M., Luis, J., Hernández-lauzardo, A. N., Bautista-baños, S., Velázquez-, M. G., Trejo-espino, J. L., Nacional, I. P., Desarrollo, C. De, Bióticos, D. P., Yau-tepec-jojutla, C., & Isidro, S. (2006). Identification of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill., Causal Agent of *Rhizopus* Rot Disease of Fruits and Vegetables. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1), 65-69.
- Ochoa, M. S., Pedraza, R. M., & Martínez, M. (2010). *Plantas , hongos micorrízicos y bacterias : su compleja red de interacciones*. 12(1), 65-71.
- Olguín, I. O. (2014). *Comparación de métodos de cuantificación de bacterias lácticas expuestas a estrés y durante su desarrollo en salchichas*.
- Previo, T. D. E. G., Obtenci, L. A., & Agr, T. D. E. I. (2014). *UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR NATURALES Y DEL AMBIENTE ESCUELA DE*

*INGENIERIA AGRONOMICA TEMA: “ DIAGNOSTICO DEL USO Y MANEJO DE
PLAGUICIDAS EN LOS CULTIVOS DE MORA (Rubus glaucus) Y PAPA (Solanum tuberosum) EN LOS CANTONES GUARANDA Y CHILLANES , PRO.*

Ramírez, J., & Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch. prev. riesgos labor. (Ed. impr.)*, 4(2), 67-75.

Ramírez S, J. A., Parra V., J. A., & Alvarez Aldana, A. (2017). Análisis de técnicas de recuento de Microorganismos. *Mente Joven*, 6, 01-08.
https://doi.org/10.18041/2323-0312/mente_joven.0.2017.3665

Ramos Vázquez, E., & Zúñiga Dávila, D. (2008). Efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio. *Ecología Aplicada*, 7, 123-130. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:>

Reinoso, Y., Vaillant, D., Casadesús, L., García, E., & Pazos, V. (2007). Cepas de *Brevibacillus Laterosporus* y *Brevibacillus brevis* antagonistas de bacterias y hongos fitopatógenos del Cultivo de la Papa (*Solanum Tuberosum* L.). *Reinoso, Yaritza Vaillant, Daymara Casadesús, Luis García, Ernesto Pazos, Victoria*, 11(2),

79-80. <http://www.redalyc.org/pdf/2091/209116152004.pdf>

Restrepo 2001.pdf. (s. f.).

Rodríguez, C., Buitrago, J., Betancurt, A., & Lara, R. (2017). Actividad antagonista de bacillus sp frente a fusarium oxysporum: un aporte a la agricultura sostenible | Rodríguez González | Revista Nova. *Revista Nova*, 3, 9-19.
<http://revistas.sena.edu.co/index.php/rnova/article/view/1515/1691>

Romero, T., & Vargas, D. (2017). Uso de microorganismos eficientes para tratar aguas contaminadas Efficient microorganisms in polluted water treatment. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 28(3), 88-100.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1680-03382017000300008

Sandro, J., & Patrick, R. (2019). Aislamiento y caracterización de *S treptomycetes* spp rizosféricos promotores del crecimiento vegetal. *ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN*, 37(IDESIA (Chile)), 109-116.

Santamaria, V. S. (2009). Evaluación microbiana, hormonal y nutricional de ocho formulaciones en la prepracion de biol y su aplicacion en tres dosis en el cultivo de palmito. El Prado. *El Prado*, 1.

- Sarandón, S. J., Flores, C. C., & Universidad Nacional de La Plata. (2014). *Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de Agroecosistemas sustentables* (editorial@). file:///C:/Users/admin/Downloads/Sarandón Final Definitivo 27 junio 2014.pdf
- Sastoque-Cala., Reyes, M., Martínez-Salgado, M. M., Quevedo-Hidalgo, B., & Pedroza-Rodríguez, A. . (2007). Producción de quitinasas extracelulares con una cepa alcalófila halotolerante de *Streptomyces* sp. aislada de residuos de camarón. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 137-146.
- Sauka, D. H., & Benintende, G. B. (2008). *Bacillus thuringiensis*: Generalidades. Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. *Revista Argentina de Microbiología*, 40(2), 124-140.
- Sobrero, M. S., Frisón, L. N., Chiericatti, C. A., Aríngoli, E. E., Basílico, J. C., & Basílico, M. L. Z. (2013). *Nota Técnica Parámetros cinéticos como herramienta para la caracterización de aislados de Aspergillus sección Nigri Kinetic parameters as tool for characterization of isolates of Aspergillus section Nigri*. 4(2), 146-156.
- Tapia, C., & Amaro, J. (2014). Retrato Microbiológico. *Programa de Microbiología y Micología*, 31(1), 85-86.
- Thomashow, L. S. (1996). Biological control of plant root pathogens. *Current Opinion in Biotechnology*, 7(3), 343-347. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(96\)80042-5](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(96)80042-5)
- Vel'ez, P., & Rosillo, A. (1995). verticillum roya en cafe.pdf. *Cenicafé*, 46(1), 1, 55. <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/693/1/arc046%2801%2945-55.pdf>
- Velázquez, M., Bautista, S., Hernández, A., Guerra, M., & Amora, E. (2008). Estrategias de Control de *Rhizopus stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, Agente Causal de Pudriciones Postcosecha en Productos Agrícolas. *Revista mexicana de fitopatología*, 26(1), 49-55. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092008000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Vilanova Torren, L. (2014). Interacción Fruta-Patógeno : Factores De Virulencia De *Penicillium* spp . y Mecanismos De Defensa De Naranjas y Manzanas. *TDX (Tesis Doctorals en Xarxa)*, 1, 23-26. <http://hdl.handle.net/10803/285360>

Zalila-Kolsi, I., Ben Mahmoud, A., Ali, H., Sellami, S., Nasfi, Z., Tounsi, S., & Jamoussi, K. (2016). Antagonist effects of *Bacillus* spp. strains against *Fusarium graminearum* for protection of durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum). *Microbiological Research*, 192, 148-158. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.06.012>

ANEXOS

Variación de las poblaciones de Bacillus en bioles

1 mes

Factorial AOV Table for UFCsq

Source	DF	SS	MS	F	P
Rep	2	1712485	856243		
BACTERIA	2	1637578	818789	3.78	0.0453
Dosis	2	229191	114595	0.53	0.5993
BACTERIA*Dosis	4	780331	195083	0.90	0.4869
Error	16	3467605	216725		
Total	26	7827191			

Gran media 597.62
CV 77.90

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de UFCsq para BACTERIAS

BACTERIA	Mean	Homogeneous Groups
2	928.47	A
3	526.42	AB
1	337.96	B

Error estándar alfa 0.05 para comparación 219.46
Valor crítico Q 3.651 Valor crítico para la comparación 566.49 Hay 2 grupos (A y B) en los que las medias no son significativamente diferentes entre sí.

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de UFCsq para BACTERIAS * Dosis

BACTERIA	Dosis	Mean	Homogeneous Groups
2	3	1186.1	A
2	1	1099.3	A
3	3	595.6	A
3	1	557.1	A
2	2	499.9	A
1	2	476.0	A
3	2	426.6	A
1	1	349.5	A
1	3	188.4	A

Error estándar alfa 0,05 para la comparación 380,11
Valor crítico Q 5.035 Valor crítico para la comparación 1353.2
No hay diferencias significativas por pares entre las medias.

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de UFCsq para Dosis

Dosis	Mean	Homogeneous Groups
1	668.65	A
3	656.69	A
2	467.50	A

Error estándar alfa 0.05 para comparación 219.46
 Valor crítico Q 3.651 Valor crítico para la comparación 566.49 No hay
 diferencias significativas por pares entre las medias.

Mes 2 (60 días de inoculación)

Factorial AOV Table for UFCsq

Source	DF	SS	MS	F	P
Rep	2	221123	110562		
BACTERIA	2	3171109	1585554	2.23	0.1404
Dosis	2	4364065	2182032	3.06	0.0748
BACTERIA*Dosis	4	8405783	2101446	2.95	0.0529
Error	16	1.140E+07	712435		
Total	26	2.756E+07			

Gran media 1305.1
 CV 64.67

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de UFCsq para BACTERIAS

BACTERIA	Mean	Homogeneous Groups
3	1733.2	A
2	1287.9	A
1	894.2	A

Error estándar alfa 0.05 para comparación 397.89
 Valor crítico Q 3.651 Valor crítico para la comparación 1027.1
 No hay diferencias significativas por pares entre las medias.

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de UFCsq para BACTERIAS * Dosis

BACTERIA	Dosis	Mean	Homogeneous Groups
3	3	2824.0	A
2	3	2215.3	A
1	1	1639.8	A
3	2	1482.4	A
2	1	1114.6	A
3	1	893.0	A
1	2	574.1	A
2	2	533.8	A
1	3	468.8	A

Error estándar alfa 0.05 para comparación 689.17
 Valor crítico de Q 5,035 Valor crítico de comparación 2453,5
 No hay diferencias significativas por pares entre las medias.

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de UFCsq para Dosis

Dosis	Mean	Homogeneous Groups
3	1836.0	A
1	1215.8	A

2 863.5 A

Error estándar alfa 0.05 para comparación 397.89
Valor crítico Q 3.651 Valor crítico para la comparación 1027.1
No hay diferencias significativas por pares entre las medias.

Mes 3 (90 días de la inoculación)

Tabla factorial AOV para UFCsq

Source	DF	SS	MS	F	P
Rep	2	4009744	2004872		
BACTERIA	2	1.142E+08	5.708E+07	6.49	0.0093
Dosis	2	1018215	509108	0.06	0.9440
BACTERIA*Dosis	4	7440970	1860243	0.21	0.9280
Error	15	1.319E+08	8796586		
Total	25				

Nota: Las SS son sumas marginales (tipo III) de cuadrados.

Gran media 3248.0
CV 91.31

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de UFCsq para BACTERIAS

BACTERIA	Mean	Homogeneous Groups
2	5408.5	A
3	3862.6	AB
1	472.9	B

Error estándar alfa 0,05 para la comparación 1398,1 a 1462,2
Valor crítico Q 3.675 Valor crítico para la comparación 3633.2 A 3799.7
Hay 2 grupos (A y B) en los que las medias
no son significativamente diferentes entre sí.

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de UFCsq para BACTERIAS * Dosis

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de UFCsq para BACTERIAS			2
1		6111.9	A
2	3	5971.5	A
3	2	4405.3	A
2	2	4142.2	A
3	3	3655.2	A
3	1	3527.3	A
1	3	593.1	A
1	1	465.4	A
1	2	360.1	A

Error estándar alfa 0,05 para comparación 2421,7 a 2741,1

Valor crítico Q 5.076 Valor crítico para la comparación 8692.0 A 9838.7
 No hay diferencias significativas por pares entre las medias.

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de UFCsq para Dosis

Dosis	Mean	Homogeneous Groups
3	3406.6	A
1	3368.2	A
2	2969.2	A

Error estándar alfa 0,05 para la comparación 1398,1 a 1462,2
 Valor crítico Q 3.675 Valor crítico para la comparación 3633.2 A 3799.7
 No hay diferencias significativas por pares entre las medias.

Efecto dosis vs tiempo para la variable pH

Factorial AOV Table for pH

Source	DF	SS	MS	F	P
rep	2	0.04906	0.02453		
Trat	3	3.50547	1.16849	16.85	0.0000 valores
Tiempo	2	0.55510	0.27755	4.00	0.0329
Trat*Tiempo	6	0.76531	0.12755	1.84	0.1375
Error	22	1.52552	0.06934		
Total	35	6.40047			

Gran media 5.6979
 CV 4.62

Efecto dosis vs tiempo

Factorial AOV Table for CE

Source	DF	SS	MS	F	P
rep	2	0.18	0.092		
Trat	3	2241.23	747.076	3271.05	0.0000
Tiempo	2	211.82	105.910	463.72	0.0000
Trat*Tiempo	6	99.72	16.620	72.77	0.0000
Error	22	5.02	0.228		
Total	35	2557.98			

Gran media 19.112
 CV 2.50

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de pH para Tiempo

Tiempo	Mean	Homogeneous Groups
30	5.8500	A
90	5.6979	AB
60	5.5458	B

Alpha 0.05 Error estándar para comparación 0.1075

Valor crítico de Q 3,554 Valor crítico de comparación 0,2701
 Hay 2 grupos (A y B) en los que las medias
 no son significativamente diferentes entre sí.

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de pH para Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
1	6.1833	A
2	5.7583	B
0	5.4500	BC
3	5.4000	C

Alpha 0.05 Error estándar para comparación 0.1241
 Valor crítico de Q 3.928 Valor crítico de comparación 0.3448
 Hay 3 grupos (A, B, etc.) en los que los medios
 no son significativamente diferentes entre sí.

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de pH para Trat
 * Tiempo

Trat	Tiempo	Mean	Homogeneous Groups
1	30	6.5333	A
1	90	6.1833	AB
2	30	6.0667	ABC
1	60	5.8333	ABC
2	90	5.7583	ABC
0	60	5.5000	BC
0	90	5.4500	BC
2	60	5.4500	BC
3	30	5.4000	C
3	60	5.4000	C
0	30	5.4000	C
3	90	5.4000	C

Error estándar alfa 0,05 para comparación 0,2150
 Valor crítico Q 5.142 Valor crítico para la comparación 0.7818
 Hay 3 grupos (A, B, etc.) en los que los medios
 no son significativamente diferentes entre sí.

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de CE para Tiempo

Tiempo	Mean	Homogeneous Groups
60	22.083	A
90	19.113	B
30	16.142	C

Alpha 0.05 Error estándar para comparación 0.1951
 Valor crítico de Q 3,554 Valor crítico de comparación 0,4902
 Los 3 medios son significativamente diferentes entre sí.

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de CE para Trat

Trat	Mean	Homogeneous Groups
2	23.867	A
1	23.767	A
3	23.367	A
0	5.450	B

Error estándar alfa 0.05 para comparación 0.2253
 Valor crítico de Q 3,928 Valor crítico de comparación 0,6257
 Hay 2 grupos (A y B) en los que las medias
 no son significativamente diferentes entre sí.

Prueba de comparaciones de todos los pares de Tukey HSD de CE para Trat
 * Tiempo

Trat	Tiempo	Mean	Homogeneous Groups
2	60	29.267	A
1	60	28.000	A
3	60	25.567	B
2	90	23.867	C
1	90	23.767	C
3	90	23.367	C
3	30	21.167	D
1	30	19.533	E
2	30	18.467	E
0	60	5.500	F
0	90	5.450	F
0	30	5.400	F

Error estándar alfa 0.05 para comparación 0.3902
 Valor crítico Q 5.142 Valor crítico para la comparación 1.4189
 Hay 6 grupos (A, B, etc.) en los que los medios
 no son significativamente diferentes entre sí.

DATOS INFORMATIVOS

SOLICITANTE: Pablo Rodríguez

MUESTRA: Biol

MOTIVO DE ANALISIS: Análisis microbiológico

RESULTADOS MES 1

Muestra T1

Bacterias: 50 ml

Bacillus subtilis 4.0x10⁵ ufc/mL de sustrato

Bacillus thuringiensis 2.0x10⁴ ufc/ mL de sustrato

Bacillus latenosporus 3.5x10⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 100 ml

Bacillus subtilis 3.0x10⁵ ufc/mL de sustrato

Bacillus thuringiensis 3.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacillus latenosporus 4.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 150 ml

Bacillus subtilis 4.0x10⁴ ufc/mL de sustrato

Bacillus thuringiensis 3.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacillus latenosporus 4.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

pH: 6.5 (prácticamente neutro)

Densidad: 1.029 g/mL

Hongos:

Verticillium sp: 1x10⁵ upc/ mL de sustrato

Bacterias: 3x10⁶ ufc/mL de sustrato

Streptomyces: 8x10⁶ ufc/ mL de sustrato

Levaduras: 1x10⁵ upc/ mL de sustrato

Ufc: unidad formadora de colonia

Upc: unidad propagadora de colonia

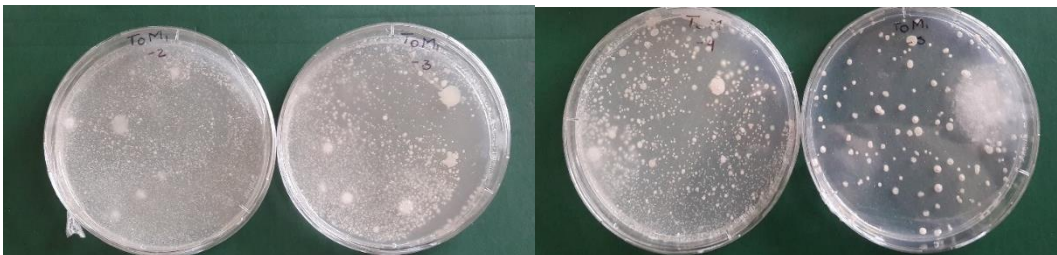


Figura 1: microorganismos presentes en muestra de biol.

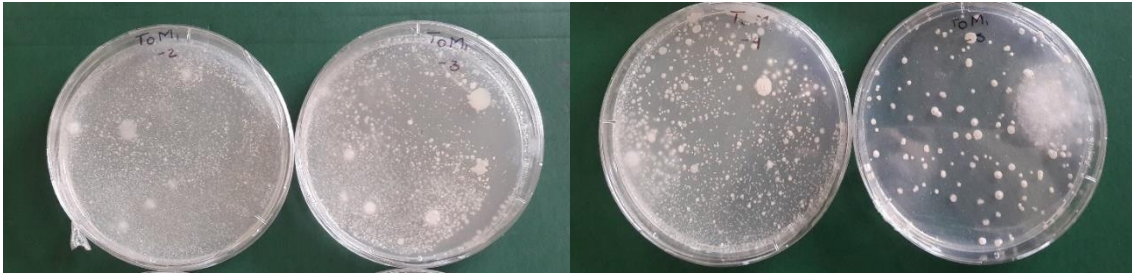


Figura 1.1: microorganismos presentes en muestra de biol. T1

Muestra T2

Bacterias: 50ml

Bacillus subtilis 5.0x10⁵ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 6.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato
Bacillus latenosporus 4.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 100 ml

Bacillus subtilis 5.0x10⁵ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 5.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato
Bacillus latenosporus 4.0x10⁴ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 150 ml

Bacillus subtilis 5.0x10⁴ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 5.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato
Bacillus latenosporus 5.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

pH: 6.5 (neutro)

Densidad: 1.038 g/mL

Hongos:

Verticillium sp: 1x10⁵ upc/ mL de sustrato

Bacterias: 4x10⁷ ufc/mL de sustrato

Streptomyces: 8x10⁶ ufc/ mL de sustrato

Levaduras: 1x10⁵ upc/ mL de sustrato

Ufc: unidad formadora de colonia

Upc: unidad propagadora de colonia

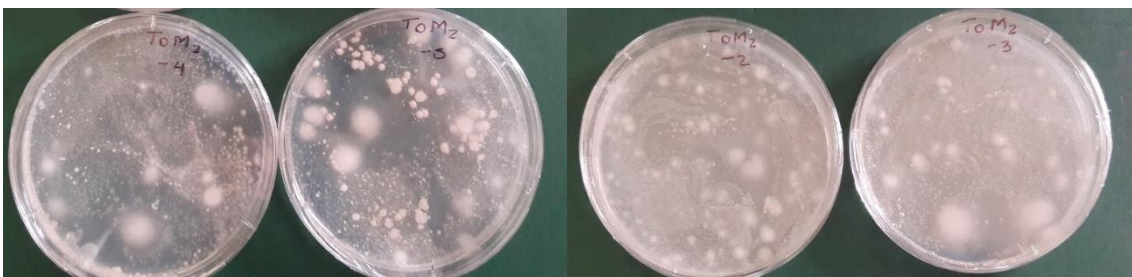


Figura 2: microorganismos presentes en muestra de biol. T2

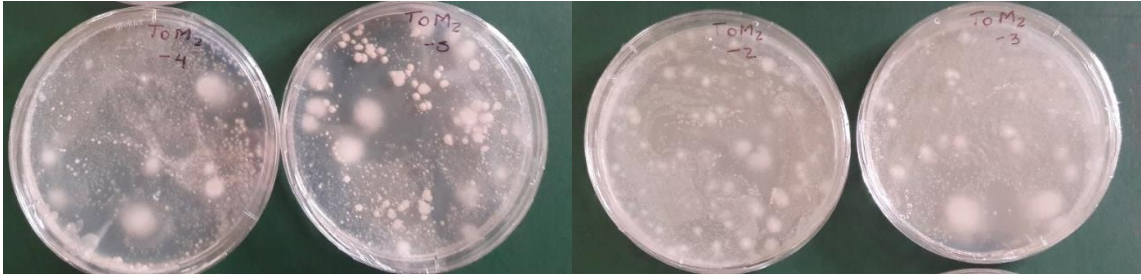


Figura 2.1: microorganismos presentes en muestra de biol. T2

Muestra T3

Bacterias: 50ml

Bacillus subtilis 2.0x10⁴ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 5.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato
Bacillus latenosporus 2.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 100 ml

Bacillus subtilis 3.0x10⁴ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 6.0x10⁴ ufc/ mL de sustrato
Bacillus latenosporus 2.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 150 ml

Bacillus subtilis 2.0x10⁴ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 6.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato
Bacillus latenosporus 2.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

pH: 5.5 (ácido)

Densidad: 1.038 g/mL

Hongos:

Verticillium sp: 1x10⁵ upc/ mL de sustrato

Bacterias: 4x10⁷ ufc/mL de sustrato

Streptomyces: 8x10⁶ ufc/ mL de sustrato

Levaduras: 1x10⁵ upc/ mL de sustrato

Ufc: unidad formadora de colonia

Upc: unidad propagadora de colonia

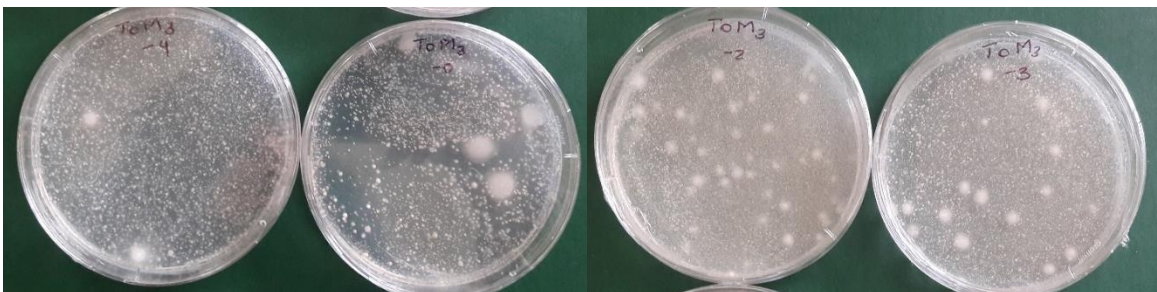


Figura 3: microorganismos presentes en muestra de biol. T3

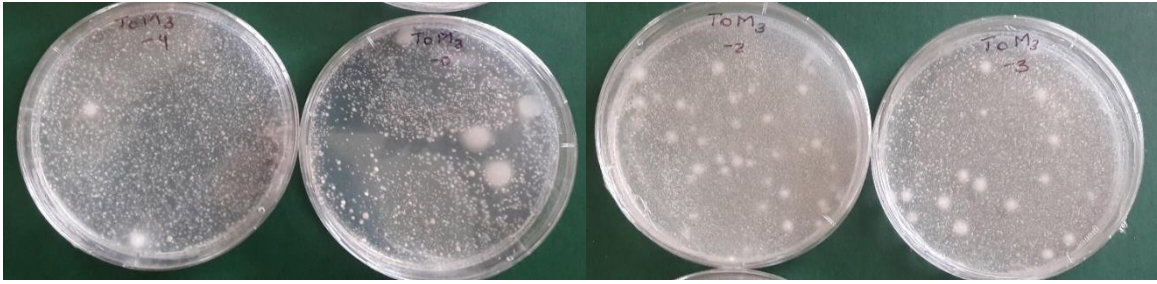


Figura 3.1: microorganismos presentes en muestra de biol. T3

Para el aislamiento y cuantificación de *Bacillus subtilis* y *Bacillus latenosporus* se utilizó medio de cultivo agarizado selectivo que consta de azúcar, KH_2PO_4 (fosfato diácido de potasio), Na_2HPO_4 (fosfato ácido de sodio), NH_4NO_3 (nitrato de amonio), CaCl_2 (Cloruro de calcio), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato de magnesio), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato ferroso) y sodio EDTA.

Para el aislamiento y cuantificación de *Bacillus thuringiensis* se utilizó medio de cultivo Luria Bertani.

Para el tratamiento de cada una de las muestras se utilizó la técnica recuento por dilución.

CONCLUSIONES:

Los 3 tipos de *Bacillus* se encuentran en niveles poblacionales medias.

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, followed by an official circular stamp. The stamp contains the text: "FACULTAD DE RECURSOS NATURALES", "Centro Sanidad Vegetal", and "FITOPATOLOGIA".

Ing. Rosa Castro Gómez PHD

ANALISTA FITOPATÓLOGA

DATOS INFORMATIVOS

SOLICITANTE: Pablo Rodríguez

MUESTRA: Biol

MOTIVO DE ANALISIS: Análisis microbiológico

RESULTADOS MES 2

Muestra T1

Bacterias: 50 ml

Bacillus subtilis 5.0x10⁶ ufc/mL de sustrato

Bacillus thuringiensis 2.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacillus latenosporus 4x10⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 100 ml

Bacillus subtilis 6.0x10⁵ ufc/mL de sustrato

Bacillus thuringiensis 2.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacillus latenosporus 4.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 150 ml

Bacillus subtilis 4.0x10⁵ ufc/mL de sustrato

Bacillus thuringiensis 4.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato

Bacillus latenosporus 4.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato

pH: 7,5 (prácticamente neutro)

Densidad: 1.031g/mL

Hongos:

Bacterias: 3x10⁸ ufc/mL de sustrato

Streptomyces: 8x10⁶ ufc/ mL de sustrato

Levaduras: 2x10⁷ upc/ mL de sustrato

Ufc: unidad formadora de colonia

Upc: unidad propagadora de colonia

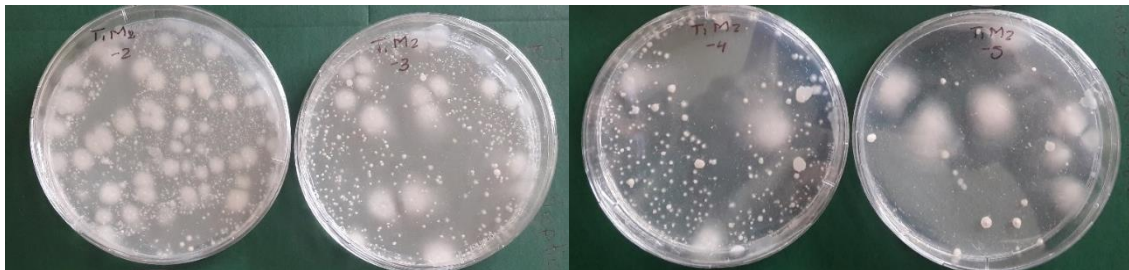


Figura 1: microorganismos presentes en muestra de biol. T1

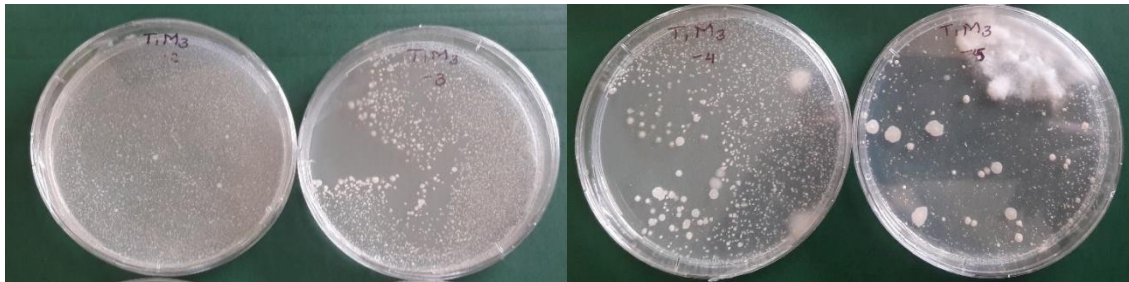


Figura 1.1: microorganismos presentes en muestra de biol. T1

Muestra T2

Bacterias: 50ml

Bacillus subtilis 6.0x10⁴ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 7.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato
Bacillus laterosporus 3.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 100 ml

Bacillus subtilis 6.0x10⁵ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 7.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato
Bacillus laterosporus 4.0x10⁴ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 150 ml

Bacillus subtilis 4.0x10⁴ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 8.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato
Bacillus laterosporus 4.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato

pH: 6.9 (neutro)

Densidad: 1.035 g/mL

Hongos:

Verticillium sp: 1x10⁵ upc/ mL de sustrato

Bacterias: 5x10⁹ ufc/mL de sustrato

Streptomyces: 8x10⁶ ufc/ mL de sustrato

Levaduras: 2x10⁵ upc/ mL de sustrato

Ufc: unidad formadora de colonia

Upc: unidad propagadora de colonia

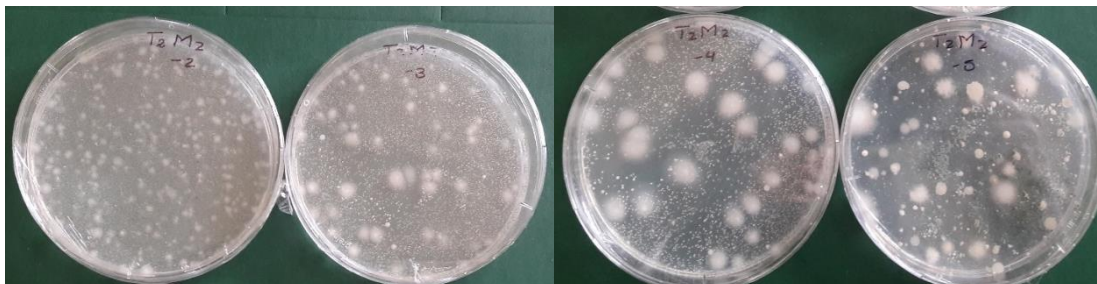


Figura 2: microorganismos presentes en muestra de biol. T2

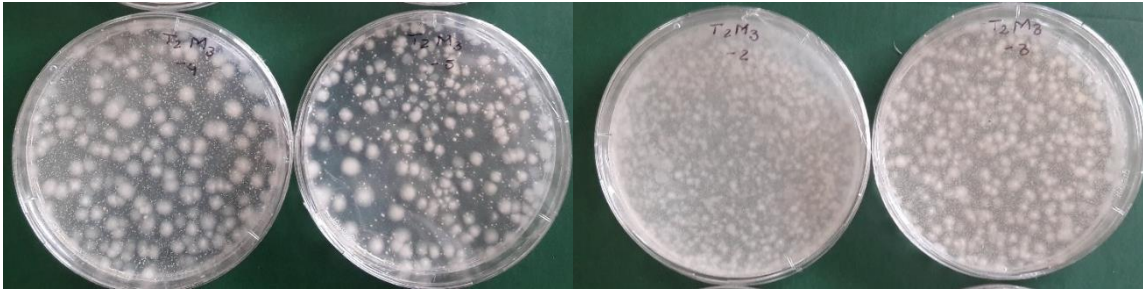


Figura 2.1: microorganismos presentes en muestra de biol. T2

Muestra T3

Bacterias: 50ml

<i>Bacillus subtilis</i>	2.0x10 ⁵ ufc/mL de sustrato
<i>Bacillus thuringiensis</i>	6.0x10 ⁶ ufc/ mL de sustrato
<i>Bacillus laterosporus</i>	2.0x10 ⁶ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 100 ml

<i>Bacillus subtilis</i>	3.0x10 ⁴ ufc/mL de sustrato
<i>Bacillus thuringiensis</i>	5.0x10 ⁶ ufc/ mL de sustrato
<i>Bacillus laterosporus</i>	2.0x10 ⁵ ufc/ mL de sustrato

Bacterias: 150 ml

<i>Bacillus subtilis</i>	2.0x10 ⁴ ufc/mL de sustrato
<i>Bacillus thuringiensis</i>	7.0x10 ⁶ ufc/ mL de sustrato
<i>Bacillus laterosporus</i>	2.0x10 ⁷ ufc/ mL de sustrato

pH: 6.8 (básico)

Densidad: 1.056 g/mL

Hongos:

Verticillium sp: 1x10⁵ upc/ mL de sustrato

Bacterias: 5x10⁸ ufc/mL de sustrato

Streptomyces: 8x10⁷ ufc/ mL de sustrato

Levaduras: 1x10⁸ upc/ mL de sustrato

Ufc: unidad formadora de colonia

Upc: unidad propagadora de colonia

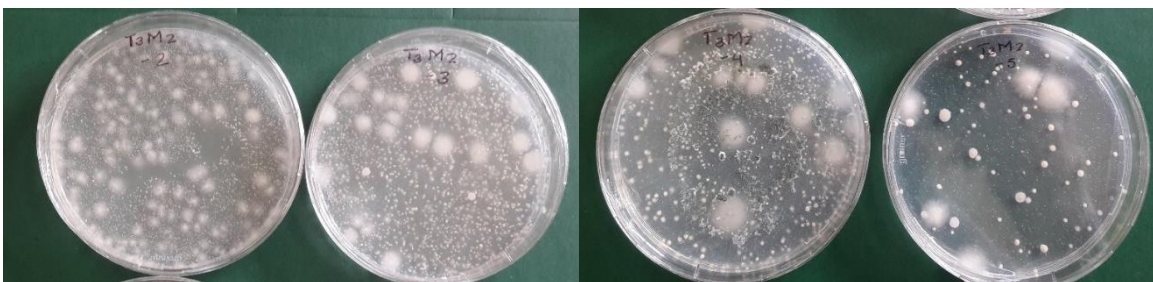


Figura 3: microorganismos presentes en muestra de biol. T3

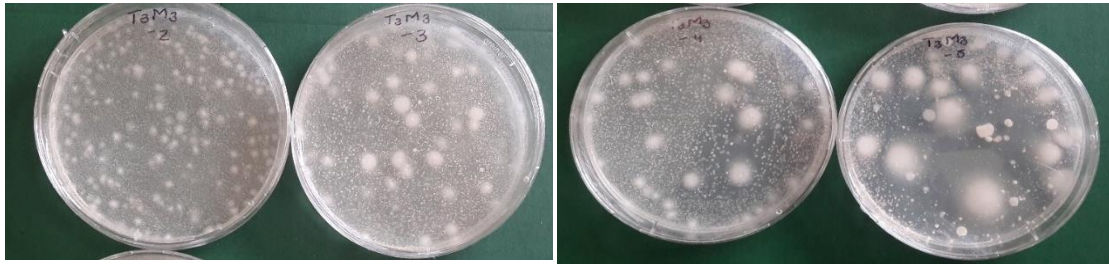


Figura 3.1: microorganismos presentes en muestra de biol. T3

Para el aislamiento y cuantificación de *Bacillus subtilis* y *Bacillus laterosporus* se utilizó medio de cultivo agarizado selectivo que consta de azúcar, KH_2PO_4 (fosfato diácido de potasio), Na_2HPO_4 (fosfato ácido de sodio), NH_4NO_3 (nitrato de amonio), CaCl_2 (Cloruro de calcio), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato de magnesio), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato ferroso) y sodio EDTA.

Para el aislamiento y cuantificación de *Bacillus thuringiensis* se utilizó medio de cultivo Luria Bertani.

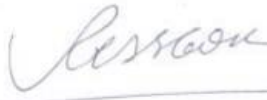

Para el tratamiento de cada una de las muestras se utilizó la técnica recuento por dilución.

CONCLUSIONES:

Los 3 tipos de *Bacillus* se encuentran en niveles poblacionales altos.

- *Streptomyces* es el género más extenso de actinobacterias, un grupo de bacterias gram positivas. Se encuentran predominantemente en suelos y en la vegetación descompuesta. Se encuentra en niveles poblacionales altos en todas las muestras analizadas, son importantes en la degradación de materia orgánica y contribuye a la formación de humus. Algunos degradan la quitina y son termófilos con actividad celulolítica
- Levaduras se encuentran en niveles poblacionales altos, favorecen la degradación de proteínas y carbohidratos.

Atentamente,

Ing. Rosa Castro Gómez PHD

ANALISTA FITOPATÓLOGA

DATOS INFORMATIVOS

SOLICITANTE: Pablo Rodríguez

MUESTRA: Biol

MOTIVO DE ANALISIS: Análisis microbiológico

RESULTADOS mes 3

Muestra T1

Bacterias:

Bacillus subtilis 6.0x10⁷ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 2.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato
Bacillus latenosporus 4.0x10⁷ ufc/ mL de sustrato

Bacillus subtilis 7.0x10⁵ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 2.0x10⁵ ufc/ mL de sustrato
Bacillus latenosporus 3.0x10⁷ ufc/ mL de sustrato

Bacillus subtilis 5.0x10⁵ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 2.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato
Bacillus latenosporus 4.0x10⁷ ufc/ mL de sustrato

pH: 6.8 (básico)

Densidad: 1.036 g/mL

Hongos:

Verticillium sp: 1x10⁵ upc/ mL de sustrato

Bacterias: 5x10⁸ ufc/mL de sustrato

Streptomyces: 8x10⁷ ufc/ mL de sustrato

Levaduras: 1x10⁶ upc/ mL de sustrato

Ufc: unidad formadora de colonia

Upc: unidad propagadora de colonia

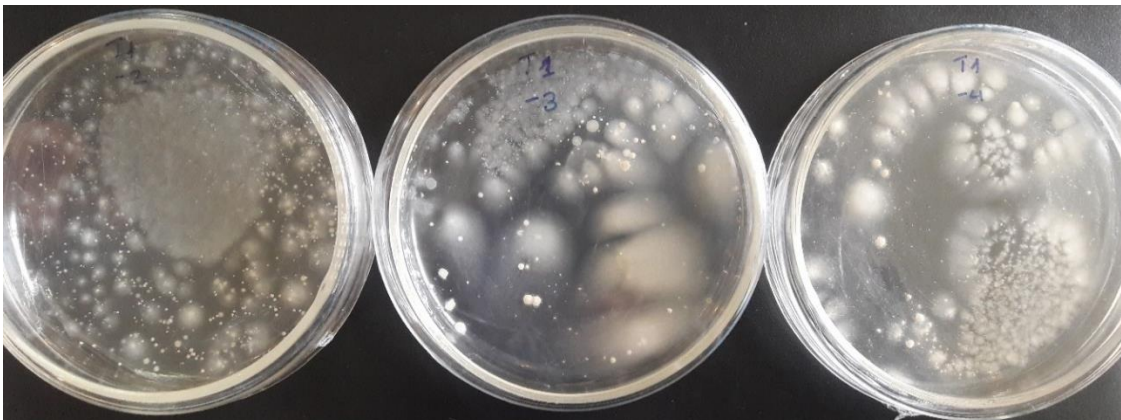


Figura 1: microorganismos presentes en muestra de biol. T1

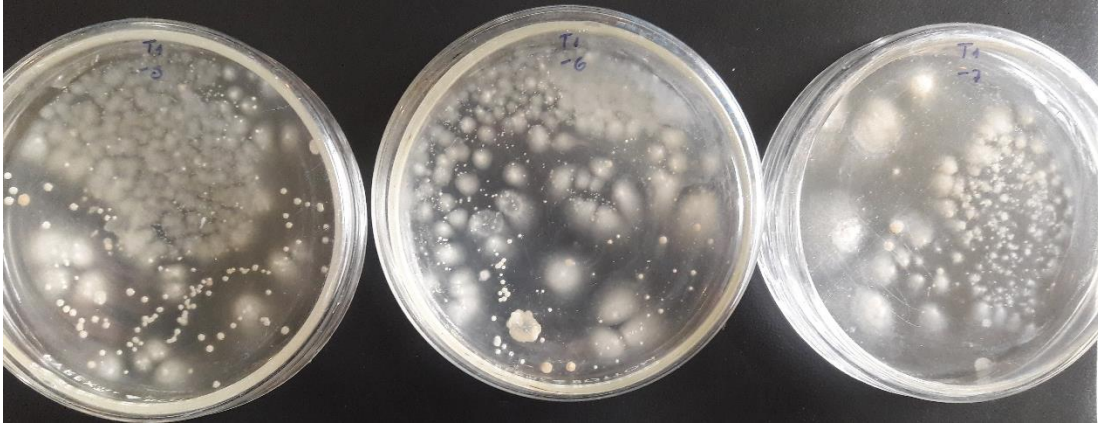


Figura 1.1: microorganismos presentes en muestra de biol. T1

Muestra T2

Bacterias:

Bacillus subtilis 7.0×10^5 ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 8.0×10^7 ufc/ mL de sustrato
Bacillus laterosporus 4.0×10^5 ufc/ mL de sustrato

Bacillus subtilis 6.0×10^5 ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 7.0×10^6 ufc/ mL de sustrato
Bacillus laterosporus 3.0×10^7 ufc/ mL de sustrato

Bacillus subtilis 5.0×10^5 ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 7.0×10^6 ufc/ mL de sustrato
Bacillus laterosporus 4.0×10^7 ufc/ mL de sustrato

pH: 6.0 (ácido)

Densidad: 1.036 g/mL

Hongos:

Verticillium sp: 1×10^5 upc/ mL de sustrato

Bacterias: 5×10^8 ufc/mL de sustrato

Streptomyces: 8×10^7 ufc/ mL de sustrato

Levaduras: 1×10^6 upc/ mL de sustrato

Ufc: unidad formadora de colonia

Upc: unidad propagadora de colonia

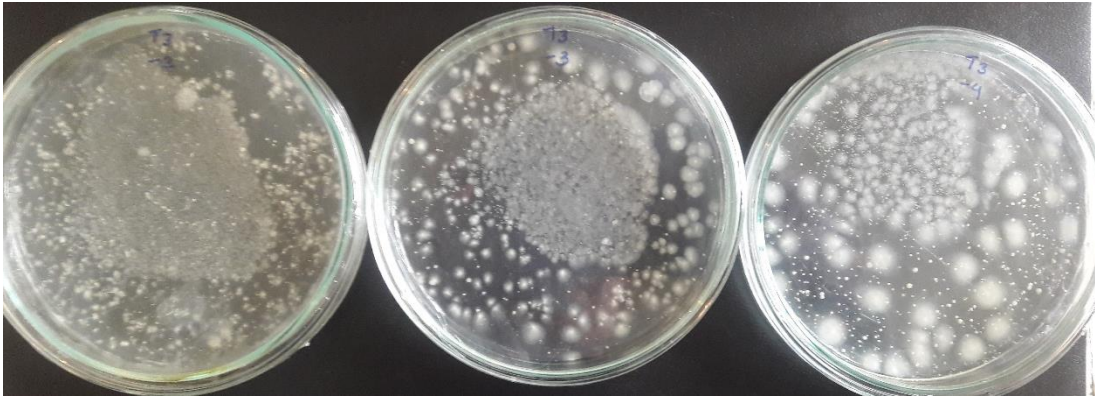


Figura 2: microorganismos presentes en muestra de biol. T2

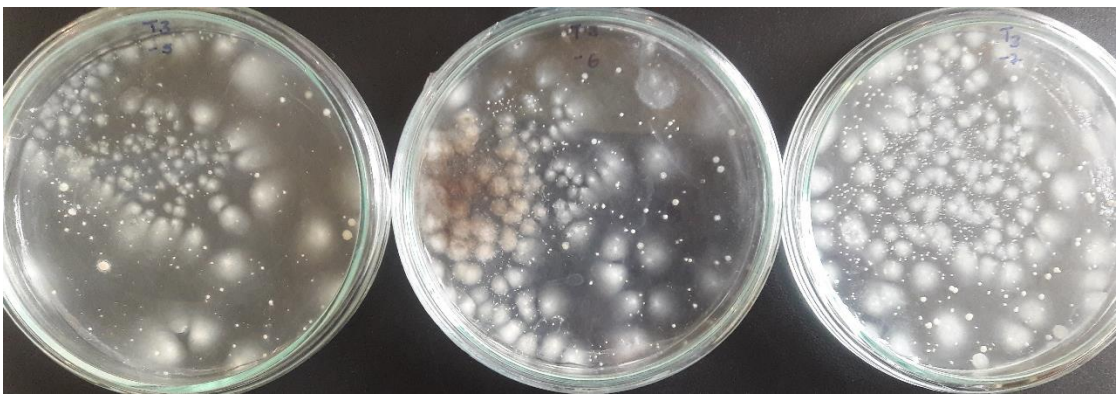


Figura 2.1: microorganismos presentes en muestra de biol. T2

Muestra T3

Bacterias:

Bacillus subtilis 2.0x10⁵ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 8.0x10⁷ ufc/ mL de sustrato
Bacillus laterosporus 2.0x10⁷ ufc/ mL de sustrato

Bacillus subtilis 1.0x10⁴ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 7.0x10⁷ ufc/ mL de sustrato
Bacillus laterosporus 2.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato

Bacillus subtilis 2.0x10⁵ ufc/mL de sustrato
Bacillus thuringiensis 8.0x10⁷ ufc/ mL de sustrato
Bacillus laterosporus 2.0x10⁶ ufc/ mL de sustrato

pH: 5.7 (ácido)

Densidad: 1.036 g/mL

Hongos:

Verticillium sp: 1x10⁵ upc/ mL de sustrato

Bacterias: 5x10⁸ ufc/mL de sustrato

Streptomyces: 8x10⁷ ufc/ mL de sustrato

Levaduras: 1x10⁶ upc/ mL de sustrato

Ufc: unidad formadora de colonia

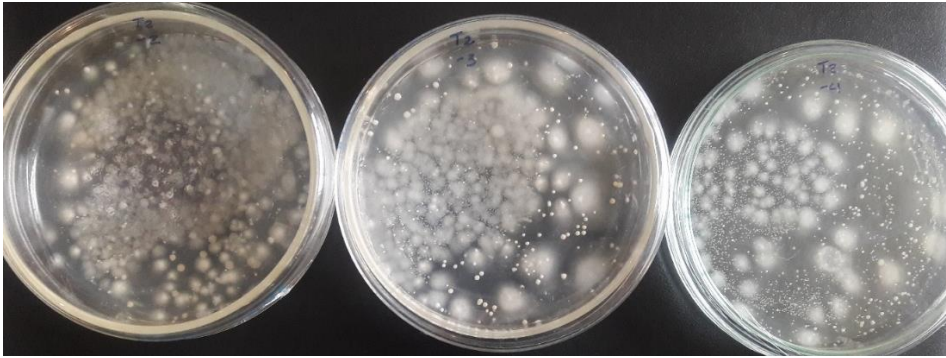


Figura 3: microorganismos presentes en muestra de biol. T3

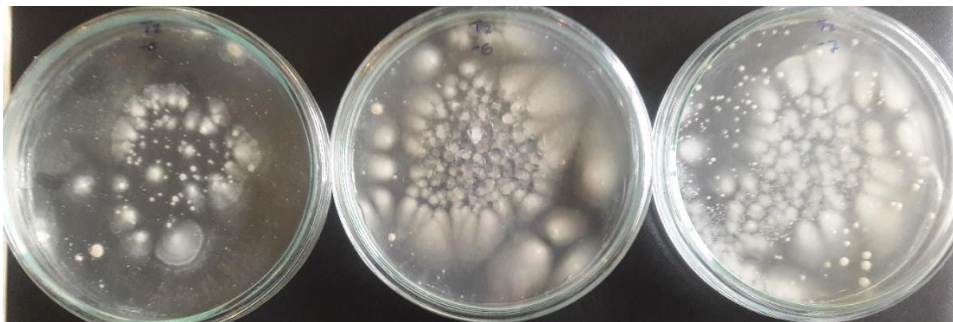


Figura 3.1: microorganismos presentes en muestra de biol. T3

Para el aislamiento y cuantificación de *Bacillus subtilis* y *Bacillus latenosporus* se utilizó medio de cultivo agarizado selectivo que consta de azúcar, KH_2PO_4 (fosfato diácido de potasio), Na_2HPO_4 (fosfato ácido de sodio), NH_4NO_3 (nitrato de amonio), CaCl_2 (Cloruro de calcio), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato de magnesio), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sulfato ferroso) y sodio EDTA.



Para el aislamiento y cuantificación de *Bacillus thuringiensis* se utilizó medio de cultivo Luria Bertani.

Para el tratamiento de cada una de las muestras se utilizó la técnica recuento por dilución.

CONCLUSIONES:

Los 3 tipos de *Bacillus* se encuentran en niveles poblacionales altos.

Atentamente,

Ing. Rosa Castro Gómez PHD

ANALISTA FITOPATÓLOGA