

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Agronomía

**Caracterización de bacterias endófitas de raíces de *Macleania rupestris* para la
identificación de cepas promotoras de crecimiento vegetal**

Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Ingeniero
Agrónomo

Autores:

Jennifer Paola Castro Villavicencio
Kerly Sofía Díaz Villavicencio

Director:

Denisse Fabiola Peña Tapia
ORCID:  0000-0002-7285-2646

Cuenca, Ecuador

2024-08-06

Resumen

El suelo alberga una gran cantidad de microorganismos, los cuales pueden establecer relaciones simbióticas, muy conocidas entre microorganismos y plantas, sin embargo, poco se conoce sobre las interacciones entre *Macleania rupestris* y los microorganismos asociados a ella. *M. rupestris*, conocida localmente como “joyapa” es una especie nativa perteneciente a la familia Ericaceae, que presenta una baya comestible de gran importancia ecológica. Con el fin de identificar microorganismos cultivables promotores del crecimiento vegetal, se aislaron bacterias a partir de raíces de joyapa y se evaluó, en condiciones *in vitro*, la capacidad de los aislados de solubilizar fosfatos y producir Ácido Indol Acético (AIA). Doce de las 20 cepas bacterianas aisladas presentaron halos de solubilización de fosfato cuando se sembraron en medio NBRIP y ninguna evidenció producción de AIA al evaluarlas mediante tinción con el reactivo Kovacs. Las cepas que presentaron resultados positivos para la prueba de solubilización de fosfato, fueron inoculadas en plántulas de joyapa para evaluar su efecto en el desarrollo. Luego de 12 semanas se registró el crecimiento de las plantas (tamaño final menos tamaño inicial), número de hojas, longitud de raíces y peso seco. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas en 8 cepas para la variable crecimiento, en peso seco 5, y 3 cepas para la variable longitud de raíz, superando al testigo en ambos casos. Los resultados evidencian la capacidad de aislados bacterianos asociados a *M. rupestris* de solubilizar fosfatos en condiciones *in vitro* y muestran los efectos positivos que algunos de ellos tienen en el desarrollo vegetal de esta especie.

Palabras clave del autor: Joyapa, solubilización de fosfatos, NBRIP



El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Cuenca ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por la propiedad intelectual y los derechos de autor.

Repositorio Institucional: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Abstract

The soil harbors a large number of microorganisms, which can establish symbiotic relationships, well known between microorganisms and plants, however, little is known about the interactions between *Macleania rupestris* and the microorganisms associated with it. *M. rupestris*, locally known as "joyapa" is a native species belonging to the family Ericaceae, which presents an edible berry of great ecological importance. In order to identify cultivable plant growth-promoting microorganisms, bacteria were isolated from joyapa roots and the ability of the isolates to solubilize phosphates and produce Indole Acetic Acid (IAA) was evaluated under in vitro conditions. Twelve of the 20 bacterial isolates showed phosphate solubilization halos when seeded on NBRIP medium and none showed AIA production when evaluated by staining with Kovacs reagent. The strains that showed positive results for the phosphate solubilization test were inoculated on joyapa seedlings to evaluate their effect on development. After 12 weeks, plant growth (final size minus initial size), number of leaves, root length and dry weight were recorded. The results showed statistically significant differences in 8 strains for the growth variable, in dry weight 5, and 3 strains for the root length variable, surpassing the control in both cases. The results show the ability of bacterial isolates associated with *M. rupestris* to solubilize phosphates under in vitro conditions and show the positive effects that some of them have on the plant development of this species.

Author Keywords: Joyapa, Phosphate solubilization, NBRIP



The content of this work corresponds to the right of expression of the authors and does not compromise the institutional thinking of the University of Cuenca, nor does it release its responsibility before third parties. The authors assume responsibility for the intellectual property and copyrights.

Institutional Repository: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Índice de contenido

Resumen	2
Abstract.....	3
Índice de contenido	4
Índice de Figuras.	6
Dedicatorias.....	8
Agradecimiento	9
1. Introducción	10
2. Objetivos	11
2.1. Objetivo general	11
2.2. Objetivos específicos.....	11
3. Hipótesis	11
4. Revisión bibliográfica	12
4.1 <i>Macleania rupestris</i>	12
4.2 Bacterias endófitas	12
4.3 Bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal	13
4.4 Bacterias solubilizadoras de fosfato.....	14
4.5 Medios de cultivo NBRIP	15
5. Materiales y métodos	15
5.1 Identificación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal.	15
5.2 Preparación de medios específicos para la caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfato y producción de AIA (ácido indolacético).....	16
5.3 Evaluar el efecto de la inoculación de las cepas seleccionadas en el desarrollo de <i>M. rupestris</i>	16
5.4 Diseño Experimental	17
5.5 Análisis de datos.....	17
6. Resultados.....	18
6.1 Identificar bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal en plántulas de <i>M. rupestris</i>	18
6.1.1 Solubilización fosfatos.....	18
6.1.2 Producción de AIA.....	19
6.2 Evaluar el efecto de la inoculación de las cepas seleccionadas en el desarrollo de <i>M. rupestris</i>	20
6.2.1 Crecimiento.....	20

6.2.2 Hojas.....	21
6.2.3 Peso seco	22
6.2.4 Longitud de raíz	23
7. Discusión	25
7. 1 Solubilización de fosfatos	25
7.2 Producción de AIA	26
7.3 Crecimiento	27
7.4 Hojas	27
7.5 Peso seco.....	28
7.6 Longitud de raíz.....	28
8. Conclusión	29
Referencias.....	30
Anexos.....	40

Índice de Figuras.

<i>Figura 1: Bacterias seleccionadas de acuerdo al halo de solubilización formado en el medio de cultivo NBRIP.....</i>	<i>18</i>
<i>Figura 2: Prueba de Producción del AIA mediante el reactivo Kovac's</i>	<i>20</i>
<i>Figura 3: Crecimiento en (cm) de las plántulas de M. rupestris.....</i>	<i>21</i>
<i>Figura 4: Número de hojas de las plántulas de M. rupestris</i>	<i>22</i>
<i>Figura 5: Peso seco (mg) de plántulas de M. rupestris.....</i>	<i>23</i>
<i>Figura 6: Longitud de las raíces (cm) de las plántulas de M. rupestris</i>	<i>24</i>

Índice de Tabla.

<i>Tabla 1: Cálculo de UFC de las 12 bacterias presentadas en el estudio.....</i>	<i>17</i>
<i>Tabla 2: Evaluación de los halos de solubilización</i>	<i>19</i>

Dedicatorias

Dedicado a mi madre Martha Villavicencio y mi padre Luis Vargas, mi hermana Karla, los cuales han sido un apoyo fundamental en esta que ha sido mi meta, a mis amigas Nathaly Guamán, Gabriela Lazo y mi prima Kerly Díaz, que han sabido estar a mi lado y brindarme recuerdos valiosos y a todos aquellos que formaron parte de este proceso.

Jennifer Castro

Dedicado a mi mami Rosi Villavicencio, mi Tía Martha, mi Tío Luis y a mi prima Jennifer Castro quienes me han apoyado y acompañado en este proceso a pesar de los momentos difíciles, a mis amigas, a mis hermanos Jordán y Mateo por estar a mi lado dándome fuerzas y ánimo de seguir.

Kerly Díaz

Y para nuestra Abuelita Carmen Sarmiento, quien ha sido un gran pilar, además de brindarnos cariño y esperanzas en los momentos difíciles.

Agradecimiento

Agradecemos a Dios por darnos la fortaleza, Inteligencia y paciencia para poder llegar hasta este punto, además de saber guiarnos y darnos consuelo en los tiempos difíciles.

A nuestros padres, y familiares que han sabido darnos apoyo incondicional, y a nuestras amigas que nos han acompañado en el transcurso de esta experiencia.

A nuestra tutora, Blg. Denisse Peña y revisores, por su guía y apoyo, en especial a Diana Curillo y Valeria Arévalo, por la paciencia, guía y apoyo en todo el proceso.

Jennifer Castro y Kerly Díaz

1. Introducción

En el suelo se encuentran una extensa diversidad de microorganismos, los cuales desempeñan distintos roles que influyen positivamente en la sustentabilidad de los ecosistemas; gran cantidad de estos microorganismos se encuentran en la rizósfera, debido a que pueden beneficiarse de los exudados radiculares de las plantas lo que permite formar distintas asociaciones entre ellas (Soroa *et al.*, 2009). Estos microorganismos generalmente interactúan con la planta cumpliendo con distintas funciones como: mejorar el crecimiento y desarrollo de los cultivos al incrementar la disponibilidad de nutrientes, proporcionar protección contra otros agentes patógenos, tolerancia a toxinas y además mejoran la estructura del suelo, entre otras (Jácome *et al.*, 2021).

Se ha reportado la capacidad que tienen los microorganismos de promover el crecimiento vegetal mediante la producción de sideróforos (Eshaghi *et al.*, 2019), solubilización de fosfato (Romero *et al.*, 2017) y fijación de nitrógeno (Timofeeva *et al.*, 2023), así como bacterias eficaces en la producción de fitohormonas (Barboza *et al.*, 2023). Los géneros *Azotobacter sp.* y *Azospirillum sp.* tienen la capacidad de elaborar sustancias promotoras de crecimiento vegetal (Lara *et al.*, 2011). Dentro de los diversos roles que cumplen los microorganismos también tenemos los que mejoran la capacidad de adaptación de las plantas ante condiciones ambientales adversas (Velasco *et al.*, 2022).

El impacto proporcionado por los microorganismos y su asociación con las plantas ha impulsado la investigación, para conocer más acerca de estas interacciones, con el fin de encontrar o aislar microorganismos benéficos eficaces para mejorar la productividad de las plantas y utilizarlos en la agricultura (De Andrade *et al.*, 2023), entre ellos tenemos bacterias y hongos los cuales destacan por su efecto en el crecimiento vegetal (Rodríguez *et al.*, 2021).

Las bacterias que tienen un efecto positivo sobre el crecimiento o desarrollo de las plantas son denominadas promotoras del crecimiento vegetal, dado que incrementan la disponibilidad de nutrientes no asimilables y son capaces de sintetizar hormonas vegetales, además, tienen un papel clave en el alivio y prevención al estrés por metales pesados, sequías, salinidad, entre otras, lo que nos indica cuán importantes son en las plantas (Pardo *et al.*, 2021). Por ello, hay quienes afirman que las bacterias endófitas

pueden ofrecer mejores resultados comparadas con un producto comercial (León *et al*, 2019).

M. rupestris es una especie frutal andina silvestre de gran potencial comercial, por ser una fuente de alimento para las comunidades cercanas a las poblaciones de esta especie (Durán *et al.*, 2013). Por el alto contenido de antioxidantes, como los taninos se le atribuyen propiedades medicinales (Barragán, 2014). Además, *M. rupestris* es una especie importante dentro del ecosistema en el que se encuentra al ser el alimento para diferentes especies de aves, roedores y mamíferos como el oso andino (Alvarez, 2022). De la misma forma por el crecimiento de la tasa de deforestación, se ha visto la necesidad de crear programas de restauración utilizando especies nativas, entre la cuales se encuentra *M. rupestris*, ya que por su notable capacidad de adaptación a diferentes condiciones climáticas son excelentes colonizadoras (Veloza *et al.*, 2014)

Este trabajo se plantea investigar las comunidades bacterianas endófitas cultivables de la raíz de *Macleania rupestris* y evaluar su capacidad para promover el desarrollo de plántulas de la misma especie. Los resultados obtenidos de esta investigación pueden aportar al desarrollo de tecnología para el cultivo de esta especie nativa.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Identificar bacterias endófitas solubilizadoras de fosfatos y productoras de ácido indolacético de raíces de *Macleania rupestris*.

2.2. Objetivos específicos

- Identificar bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal en plántulas de *M. rupestris*.
- Evaluar el efecto de la inoculación de las cepas seleccionadas en el desarrollo de *M. rupestris*.

3. Hipótesis

Las bacterias presentes en la raíz de *M. rupestris* poseen características que promueven el crecimiento vegetal.

4. Revisión bibliográfica

4.1 *Macleania rupestris*

Ericaceae es una familia de plantas angiospermas con aproximadamente 4250 especies conocidas (Martău *et al.*, 2023), siendo ésta una de las familias más destacadas dentro de los bosques montanos andinos, así como en zonas de páramo y subpáramo. Habitualmente prefieren suelos poco profundos, pedregosos, bien drenados, ácidos e infértiles (Ștefănescu *et al.*, 2019). Esta familia se encuentra distribuida principalmente en las zonas alto andinas de Ecuador, Colombia, Jamaica, Perú, Venezuela (Castrillón *et al.*, 2008). En la zona andina ecuatoriana se puede encontrar una amplia diversidad de Ericáceas desde altitudes de 1500 a 4100 m.s.n.m. dentro de las cuales encontramos a *M. rupestris*, comúnmente conocida como “joyapa” (Veloza *et al.*, 2014).

M. rupestris es una especie silvestre arbustiva perenne de hasta 2,5 m de altura que produce bayas comestibles con forma globosa de color morado oscuro brillante cuando madura (Lagos *et al.*, 2010). *M. rupestris* se puede encontrar en bosques nativos formando parte de la vegetación nativa siendo considerada como una especie de gran valor por las comunidades andinas del lugar, debido a que es utilizada como fuente de alimento. Además, desempeña diversas funciones ecológicas importantes dentro de los ecosistemas en los que habita, debido a que puede resistir heladas, fuertes vientos y puede crecer en suelos rocosos con alta exposición al sol (Durán *et al.*, 2013; Fuchs *et al.*, 2010).

4.2 Bacterias endófitas

El término 'endofitismo' describe una asociación de tipo costo-beneficio no intrusivo, asintomático y transitorio, definida por su localización dentro de los tejidos vivos de la planta hospedera, y no por su función (Fernández *et al.*, 2013). Las bacterias endofíticas son microorganismos benéficos que habitan dentro de las plantas y pueden potenciar su crecimiento tanto en condiciones habituales como adversas (Afzal *et al.*, 2019), ciertas bacterias endófitas tienen la capacidad de estimular el desarrollo de las plantas. En el caso de estas, los mecanismos que emplean para promover el crecimiento de las plantas son comparables a los utilizados por las bacterias presentes en la rizosfera (Santoyo *et al.*, 2016), las bacterias endofíticas tienen la capacidad de fortalecer la resistencia de las plantas ante situaciones de estrés, así como de mitigar los efectos adversos de los factores estresantes mediante la activación de diversos mecanismos que afectan la bioquímica y fisiología de las plantas. (Woźniak *et al.*, 2023).

Las bacterias endófitas residen en los tejidos de las plantas durante al menos parte de su ciclo vital, sin ocasionar ningún tipo de daño al organismo hospedante (Schmidt y Cerda, 2021), estas pueden desarrollar una asociación simbiótica con las plantas, lo que resulta en una serie de beneficios significativos para ellas, además estos microorganismos representan una fuente abundante de más de 20.000 compuestos biológicos activos, los cuales tienen un impacto directo en la productividad y la supervivencia de las plantas anfitrionas (Pérez, y Chamorro, 2013).

Se han identificado en las bacterias endófitas la existencia, y relevancia en la generación de metabolitos secundarios con propiedades bioactivas que ha generado interés en su potencial aplicación en el ámbito biotecnológico (Peixoto *et al.*, 2004), además cumplen una gran diversidad de funciones como promotoras de crecimiento vegetal, control biológico sobre una diversidad de fitopatógenos (Muthu *et al.*, 2022) y mejoran la eficiencia de los procesos de fitorremediación de compuesto tóxicos en la rizósfera (Torres *et al.*, 2019; Afzal *et al.*, 2014)

4.3 Bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal

Con el transcurso de los años el estudio acerca de la asociación entre plantas y bacterias nos ha demostrado que existen bacterias que pueden ofrecer diversos beneficios en las plantas, los cuales influyen favorablemente en su crecimiento (Hernández *et al.*, 2021; Marquez *et al.*, 2010). Algunos de los beneficios de esta interacción son la producción o regulación de fitohormonas, protección contra fitopatógenos, suministro de nutrientes esenciales para la planta, solubilización de fosfatos, fijación de nitrógeno, entre otros mecanismos importantes (Coutinho *et al.*, 2015; Rashid *et al.*, 2012; Santoyo *et al.*, 2016). Los microorganismos representan una fuente inagotable de compuestos biológicos, los cuales ejercen una influencia directa en el rendimiento y la supervivencia de las plantas huésped (Pérez y Chamorro, 2013).

Los mecanismos que ofrecen beneficios en el crecimiento de la planta pueden ser directos e indirectos. Los directos involucran a las bacterias que permitan la obtención de nutrientes en las plantas como son el fósforo, hierro, nitrógeno incluyendo la producción de sideróforos y fitohormonas como el ácido indolacético (AIA) entre otros, y por otra parte tenemos a los indirectos los cuales influyen en inhibición de fitopatógenos (Glick, 2014; Galeana *et al.*, 2018).

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) se caracterizan por su capacidad metabólica adaptativa, que les permite aprovechar una gran variedad de sustratos liberados por las plantas para su crecimiento, además de su resistencia al

estrés ambiental y su estrecha relación simbiótica les confieren una importante ventaja ecológica (León *et al.*, 2019). Estas bacterias son capaces de establecerse en los tejidos de la planta sin ocasionar ningún daño en esta, mientras tanto la planta puede seleccionar los microorganismos que no sean una amenaza para ella, es decir que la interacción o comunicación entre la planta y la bacteria es un punto importante para este proceso (Ali *et al.*, 2014; Hardoim *et al.*, 2008). Angulo *et al.*, (2014), reporta que ciertas bacterias PGPR exhiben múltiples mecanismos de acción relacionados con la estimulación del crecimiento en las plantas.

4.4 Bacterias solubilizadoras de fósforo.

Uno de los elementos indispensables para el crecimiento y desarrollo de la planta es el fósforo, el cual puede encontrarse en grandes cantidades en el suelo en su gran mayoría de manera insoluble (Velázquez *et al.*, 2017). Sin embargo, este macronutriente no puede ser absorbido por las plantas debido a que la disponibilidad de este elemento se relaciona con la concentración del mismo en la solución del suelo (Restrepo y Marulanda, 2015). Generalmente, en la agricultura la implementación de este nutriente es mediante fertilizantes químicos fosfatados los cuales pueden ocasionar contaminación ambiental además de desgastar el suelo (Corrales *et al.*, 2017), por esta razón la función que cumplen los microorganismos es esencial, ya que estos son capaces de contribuir en la nutrición y el crecimiento de las plantas al liberar este elemento mediante procesos como la solubilización y mineralización (Bolívar *et al.*, 2016).

Emplear estos microorganismos como inoculantes en los cultivos representa una opción biotecnológica para aumentar la disponibilidad de este nutriente (Elvia *et al.*, 2008). Cabe mencionar que los consorcios microbianos inoculados pueden aumentar considerablemente la biodiversidad del suelo, especialmente en suelos desgastados, lo que permite un mejor aprovechamiento de los minerales presentes en dichos suelos, además de mejorar su estructura (Velázquez, 2015). Los microorganismos rizosféricos, como las bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP), desempeñan una función clave al incrementar la disponibilidad de este nutriente en el suelo, por consiguiente, resulta fundamental detectar y separar estos microorganismos en la rizosfera, dado que forman parte de los mecanismos adaptativos de la especie (Torres y Prager, 2012). Diversos estudios que señalan que existe una amplia diversidad de bacterias que tiene la capacidad de solubilizar fósforo dentro de los cuales podemos mencionar a especies de *Burkholderia*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Aerobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, y *Flavobacterium* (Angulo *et al.*, 2014).

4.5 Medios de cultivo NBRIP

Para identificar microorganismos capaces de solubilizar fósforo se puede realizar la evaluación de halos de solubilización utilizando ensayos en placa con agar de crecimiento de fosfato (Vargas *et al.*, 2019). Comúnmente se utiliza el medio NBRIP (National Botanical Research Institute Phosphate growth médium) (Nautiyal, 1999), dado que tiene una composición (10 gr Glucosa, 5 gr $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 5 gr $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,25 gr $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g KCl, $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$) que nos permite la visualización de bacterias solubilizadoras de fosfatos (Pérez *et al.*, 2018), para esto cada morfotipo bacteriano debe ser inoculado sobre una placa con medio NBRIP, para identificar la capacidad de solubilizar fosfatos, la formación de un halo transparente visible alrededor y debajo de la colonia será el indicador (Marcos, F., *et al.*, 2016).

5. Materiales y métodos

Este estudio se realizó en el laboratorio de Propagación *in vitro* de plantas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, campus Yanuncay de la Universidad de Cuenca ubicado a 2595 m s. n. m.

5.1 Identificación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal.

Las muestras vegetales (raíz) de *M. rupestris* fueron recolectadas en la provincia del Azuay, Cantón Nabón, parroquia Zhiña, estas consistieron en un segmento de 1 g de raíces.

Para la desinfección las raíces fueron sumergidas en etanol al 70% durante 30 segundos, luego se las colocó en una solución de hipoclorito de sodio al 2.5% durante 5 minutos, después se procedió a poner en etanol al 70% durante 30 segundos y finalmente se lavaron cinco veces con agua destilada estéril (Galeana *et al.*, 2018).

Después de la desinfección se colocó, en una caja Petri estéril donde se cortó en segmentos pequeños con un bisturí, para luego ponerlo dentro de un tubo eppendorf con 1 ml de solución salina estéril, se macero con un micropistilo hasta tener la solución madre de la cual realizamos diluciones seriadas de 10^{-1} a 10^{-5} , y se sembraron 100 μL de las diluciones 10^{-3} - 10^{-4} - 10^{-5} (Pérez-Pérez *et al.*, 2020), estas se dispersaron con el uso de una asa de Drigalsky en las cajas con agar nutritivo y se incubaron por 72 horas a 28°C , las cepas que se desarrollaron fueron aisladas y agrupadas por morfotipos (Galeana *et al.*, 2018).

Después de la clasificación por morfotipo basados en el color y forma se sembraron nuevamente mediante la técnica de estriado para verificar su pureza, las bacterias fueron incubadas por 48 h a 28°C, (Senasica, 2020) y mantenidas en agar nutritivo para su posterior análisis (Perez C *et al.*, 2010).

5.2 Preparación de medios específicos para la caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfato y producción de AIA (ácido indolacético).

Para la solubilización de fósforo se preparó el medio NBRIP; el cual contiene: 10 g/L glucosa; 0.3 g de cloruro de potasio; 0.3 g/L cloruro de sodio; 0.03 g/L de sulfato férrico; 0.03 g/L sulfato de magnesio; 0.5 g/L sulfato de amonio; 1 g/L sulfato tricálcico; 0.1 g/L Azul de bromotimol y 15 g/L de agar. Para la determinación de los halos, las bacterias se incubaron por 14 días a 28°C luego de su siembra en el medio. (protocolo modificado de Fernández *et al.*, (2005)).

Para la identificación de bacterias productoras de ácido indolacético, éstas se cultivaron en caldo nutritivo suplementado con triptófano 1% y luego de 24 horas de incubación se adiciono 60 µl del reactivo kovac's en 500 µl de cultivo bacteriano, si el cultivo se torna a una coloración rosa, se considera un resultado positivo para la producción de AIA (Kumari *et al.*, 2018).

5.3 Evaluar el efecto de la inoculación de las cepas seleccionadas en el desarrollo de *M. rupestris*.

Una vez seleccionadas las cepas bacterianas con base en los resultados obtenidos en el objetivo 1, las cepas fueron puestas en caldo nutritivo a 28 °C durante 72 h para obtener una solución madre para preparar las soluciones de inoculación (Angulo *et al.*, 2018).

Para la contabilización de bacterias, se realizó una solución con 20 µl de solución madre, y 980 µl de caldo nutritivo, se las incubó por un 24 hrs, después se realizaron diluciones con 800 µl de suero salino y 200 µl de la solución madre, para después sembrar 100 µl de las diluciones 10^{-3} - 10^{-4} - 10^{-5} en cajas de agar nutritivo para su conteo, para su cálculo se usó la fórmula $UFC/ml = colonias \times dilucion(10^{-5}) \times 10$. Modificado de Adriel Dovalsan, (2018) y Martín Paolo, (2022).

Tabla 1: Cálculo de UFC de las 12 bacterias presentadas en el estudio.

Bacteria	UFC/ml
1	8.98×10^8
2	3.73×10^9
3	5.73×10^9
4	6.14×10^9
5	8.10×10^8
6	7.38×10^8
7	6.58×10^8
8	2.38×10^9
9	3.97×10^9
10	1.69×10^9
11	1.23×10^9
12	2.53×10^9

La solución para la inoculación fue de 100 ml, y estaba compuesta de 98 ml de caldo nutritivo y 2 ml de la solución bacteriana, se inoculó en cada planta 10 ml por el método de drench (Sánchez *et al.*, 2012).

Las plántulas fueron evaluadas en condiciones de invernadero, en vasos de 7 onzas transparente con turba de un pH de 4.5-5, con riego periódico según la necesidad de las plántulas.

5.4 Diseño Experimental

Las variables evaluadas fueron el crecimiento de la plántula, el número de hojas a lo largo del experimento, peso seco al final del mismo y la longitud de raíces.

El diseño experimental fue un DCA, en el cual contaron 12 tratamientos y un control con 10 repeticiones cada uno, su distribución se puede observar en Anexo 1.

5.5 Análisis de datos

Los datos que cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad fueron analizados con un ANOVA seguido de una prueba de Tukey con un nivel de significancia

del 5 %, y para aquellos que no cumplieron los supuestos, se usó la prueba de Kruskal-Wallis al 5% de nivel de significancia, además se utilizó la prueba de Wilcoxon al 5%, esto mediante el software estadístico R (Lovaisa *et al.*, 2018).

6. Resultados

6.1 Identificar bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal en plántulas de *M. rupestris*

6.1.1 Solubilización fosfatos

En la *Figura 1*, se aprecia la presencia de microorganismos bacterianos cultivados en el medio NBRIP, los cuales mostraron halos de solubilización alrededor de las colonias. En base a estos resultados, se seleccionaron las 12 cepas bacterianas que presentaron halo de las 20 aisladas inicialmente.

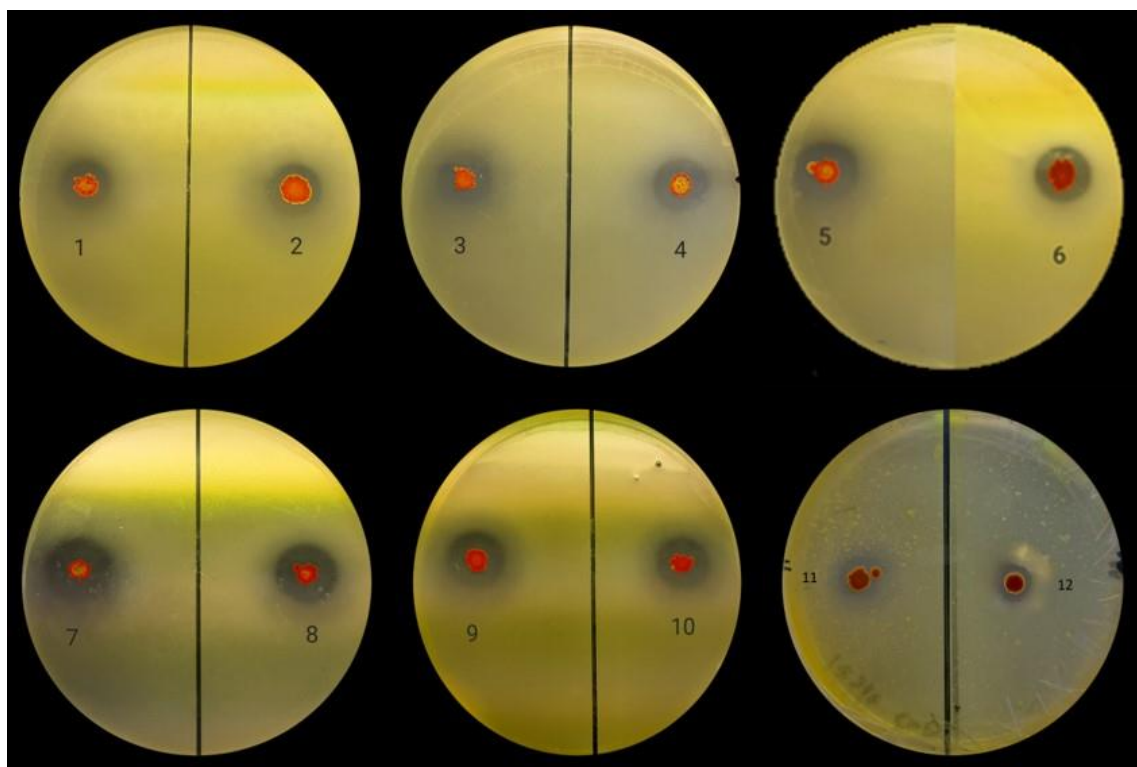


Figura 1: Bacterias seleccionadas de acuerdo al halo de solubilización formado en el medio de cultivo NBRIP

En la Tabla 2, se registran las medidas de los halos de solubilización generados por cada cepa bacteriana. Se destaca que la cepa 7 presenta el mayor diámetro de halo,

con 10.36 cm, mientras que la cepa 11 exhibe el menor tamaño de halo, con una medida de 4.39 cm.

Tabla 2: Evaluación de los halos de solubilización

Medida de Halos			
Bacterias	Halo/cm	Bacteria/cm	Resultado/cm
1	11.13	4.79	6.34
2	12.08	6.83	5.25
3	12.33	4.42	7.91
4	12.68	5.25	7.43
5	13.74	5.66	8.08
6	13.55	8.04	5.51
7	14.55	4.19	10.36
8	14.3	4.66	9.64
9	12.53	6.12	6.41
10	13.05	5.96	7.09
11	12.70	8.31	4.39
12	8.10	3.50	4.60

Nota: Medidas del halo generado por la bacteria en el medio de cultivo NBRIP, después de 14 días de su siembra.

6.1.2 Producción de AIA

En la *Figura 2*, se aprecia la tinción bacteriana para la detección de la producción de Ácido Indolacético (AIA) utilizando el reactivo Kovac's. Se observa que únicamente los controles (C001 y C002) muestran una coloración rosa, indicativa de la síntesis de AIA, mientras que las bacterias bajo estudio no exhiben esta característica cromática, sugiriendo que estas no sintetizan AIA.

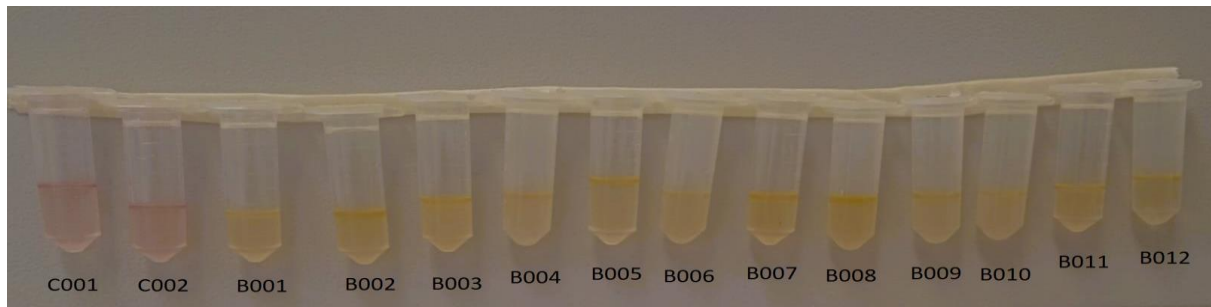


Figura 2: Prueba de Producción del AIA mediante el reactivo Kovac's

6.2 Evaluar el efecto de la inoculación de las cepas seleccionadas en el desarrollo de *M. rupestris*.

6.2.1 Crecimiento

En la *Figura 3*, se presenta el análisis estadístico no paramétrico mediante la prueba de Kruskal-Wallis realizado para la variable de crecimiento en plántulas de *M. rupestris*. Los resultados indican que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Específicamente, se observa que los tratamientos de inoculación con las bacterias T002, T003, T004, T005, T006, T008, T010, T012 presentaron un incremento significativo en el crecimiento de las plántulas en comparación con el control (C). Esto sugiere que la inoculación con dichas bacterias tuvo un efecto promotor en el crecimiento de las plántulas de *M. rupestris*.

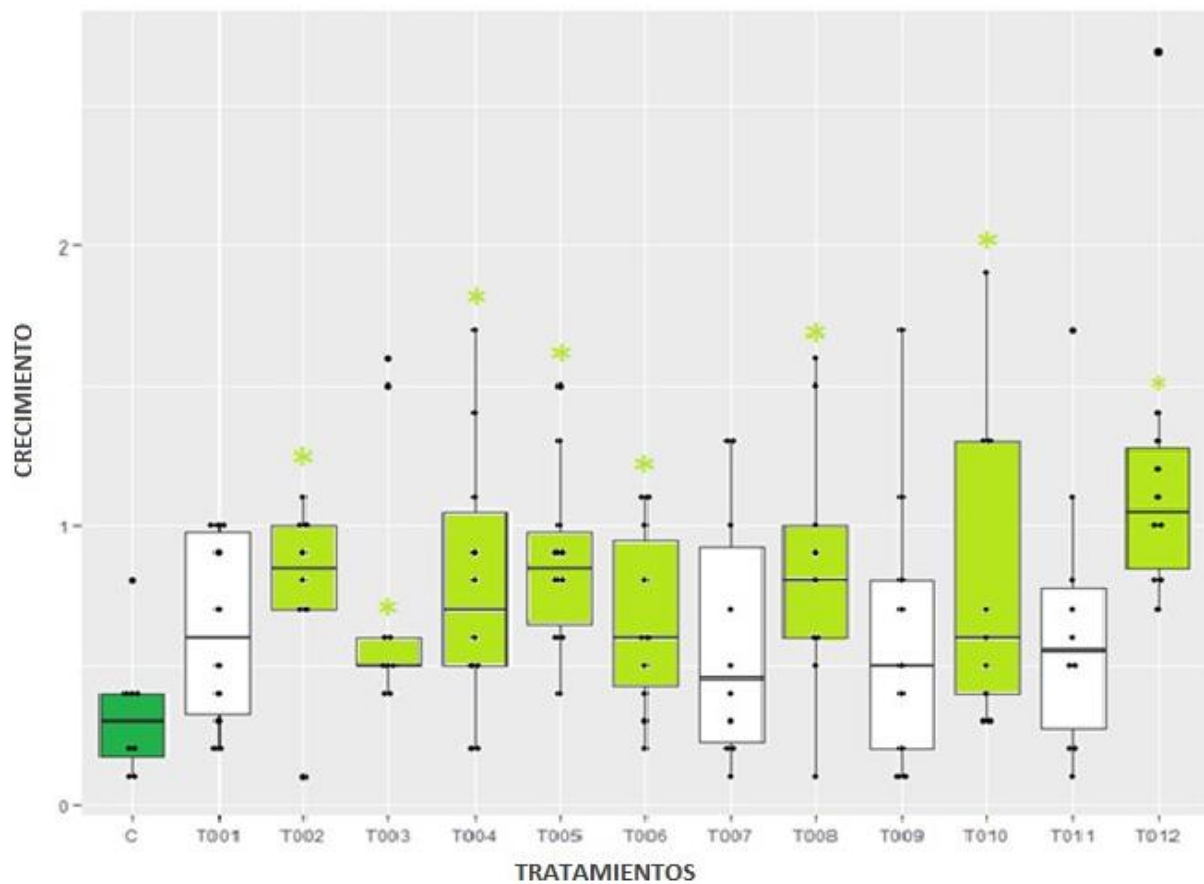


Figura 3: Crecimiento en (cm) de las plántulas de *M. rupestris* inoculadas con 12 cepas de bacterias endófitas. Asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas con respecto al control sin inoculación (Wilcoxon $p < 0.05$).

6.2.2 Hojas

En la Figura 4, se presentan los resultados correspondientes a la variable número de hojas de las plántulas de *M. rupestris* evaluadas, en donde no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas esto sugiere que los tratamientos evaluados no tuvieron impacto para esta característica.

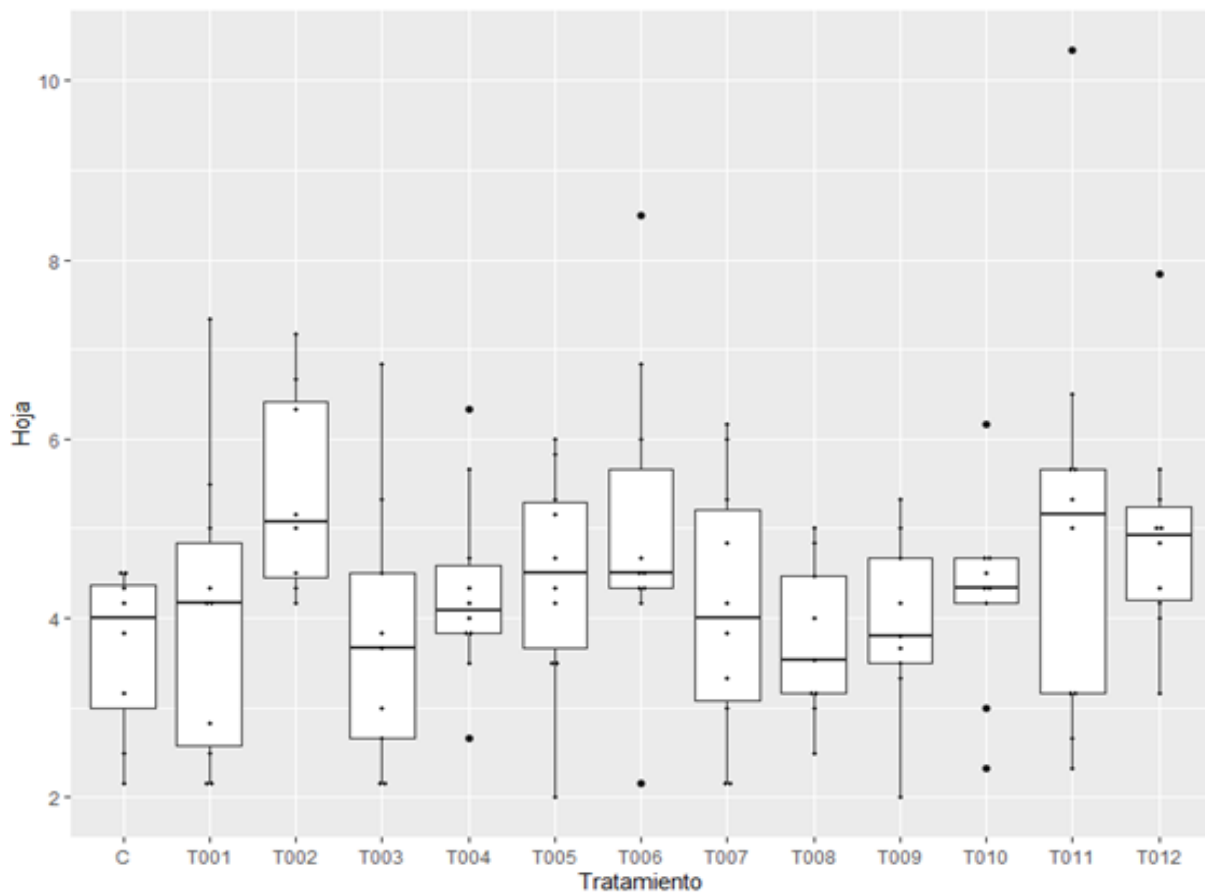


Figura 4: Número de hojas de las plántulas de *M. rupestris* inoculadas con 12 cepas de bacterias endófitas.

6.2.3 Peso seco

De acuerdo a los resultados estadísticos presentados, referente a la variable peso seco de las plántulas de *M. rupestris*, podemos decir que se presenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Esto se indica en la Figura 5, en donde predominan los tratamientos (T002, T006, T010, T011 y T012) en comparación con el control.

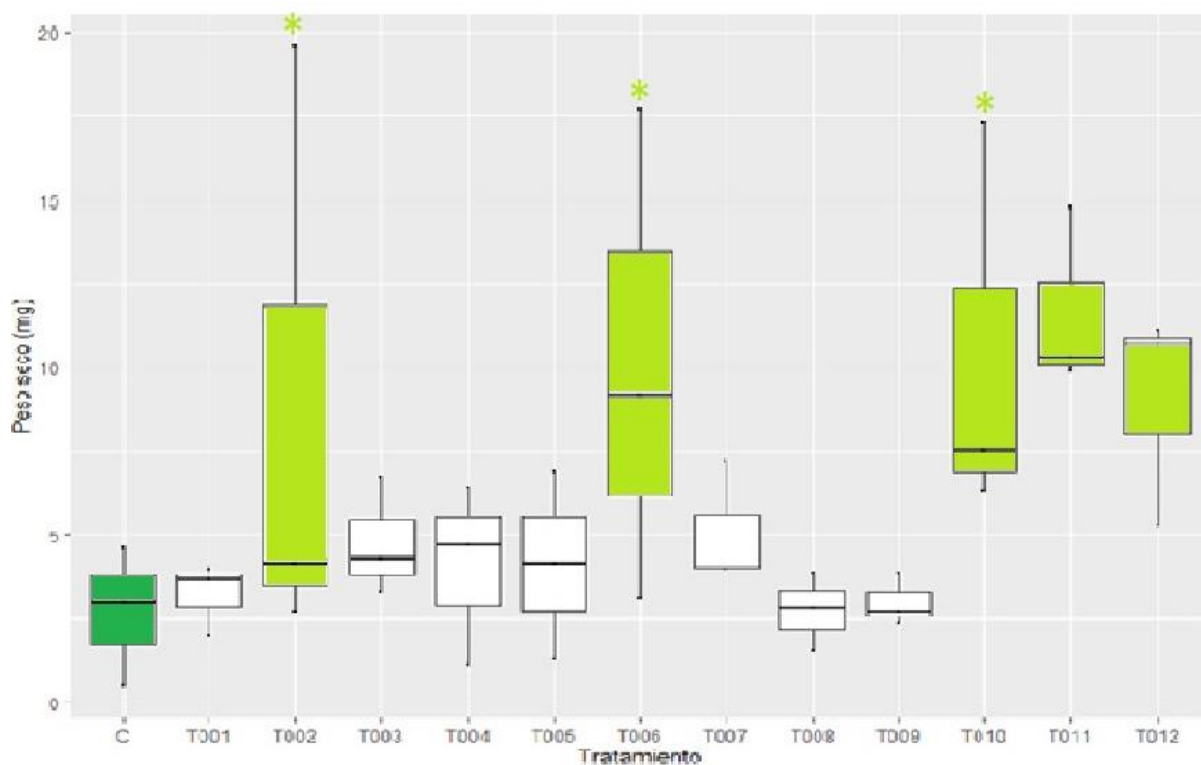


Figura 5: Peso seco (mg) de plántulas de *M. rupestris* inoculadas con 12 cepas de bacterias endófitas. Asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas con respecto al control sin inoculación (Wilcoxon $p < 0.05$).

6.2.4 Longitud de raíz

El análisis estadístico realizado para las plántulas de *M. rupestris*, reveló la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos inoculados con las bacterias T005, T006 y T012 (Anexo 3) mostrando un incremento significativo en la longitud de las raíces en comparación con el control (C) sin inoculación.

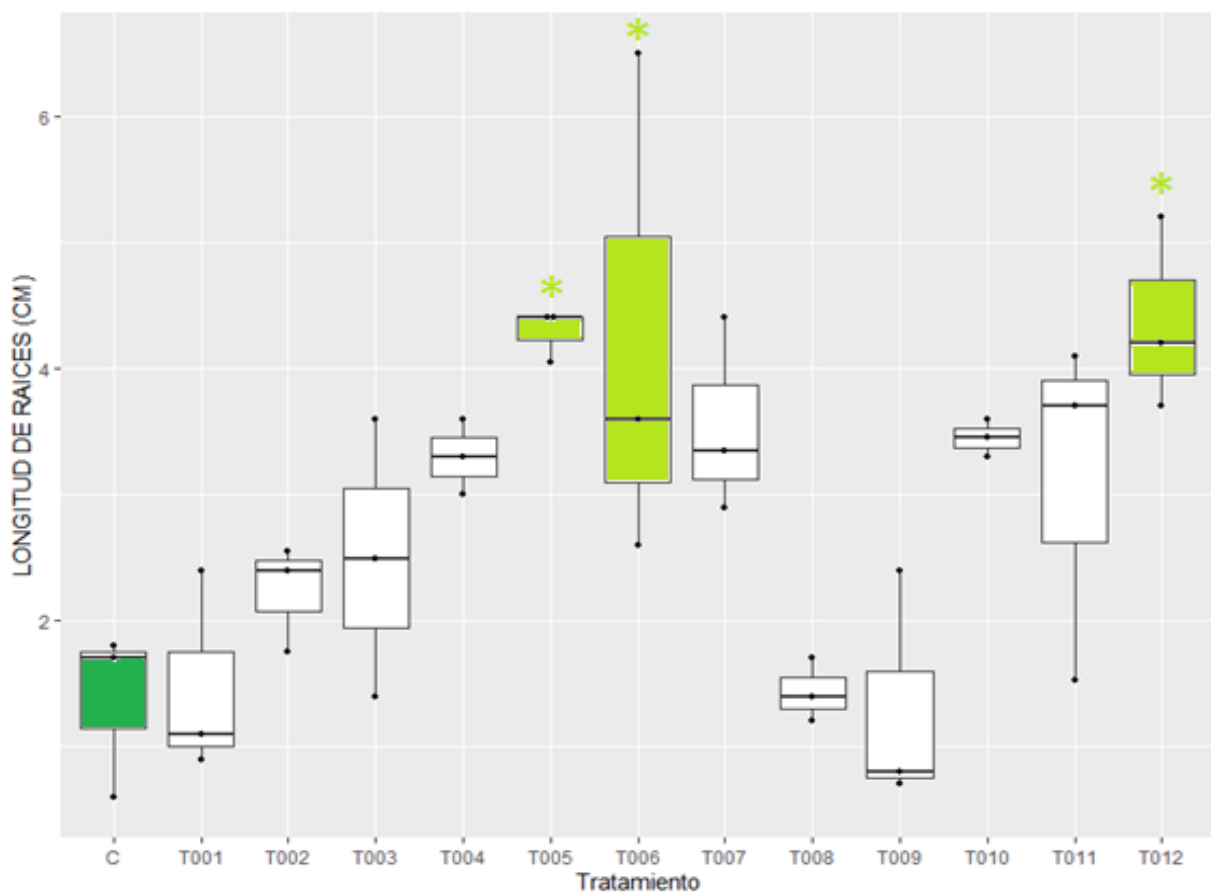


Figura 6: Longitud de las raíces (cm) de las plántulas de *M. rupestris* inoculadas con 12 cepas de bacterias endófitas. Asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas con respecto al control sin inoculación (Wilcoxon $p < 0.05$).

7. Discusión

7. 1 Solubilización de fosfatos

De acuerdo a los resultados obtenidos, las bacterias aisladas de las raíces de *M. rupertris*, que presentaron características relacionadas con la capacidad de solubilización de fosfatos, mediante la observación de halos de solubilización producidos en medio específico NBRIP, se debe a la producción de compuestos orgánicos por parte de los microorganismos en el medio de cultivo. Medina *et al.*, (2014) señalan que la estimulación del crecimiento por parte de las bacterias esta influenciado primordialmente por la combinación de mecanismos fisiológicos de la bacteria. Nyambura, (2012), aislaron e identificaron bacterias endófitas de los campos de cultivo de banano en Kenia para evaluar su potencialidad como fertilizantes biológicos, utilizando el medio de cultivo (NBRIP) para la detección de bacterias solubilizadoras de fosfato, posterior a esto se realizó una secuenciación parcial del gen 16S rRNA, identificando bacterias endófitas capaces de solubilizar fosfatos, esto de acuerdo a la selección de bacterias formadoras de halos de solubilización como resultados de la producción de ácidos orgánicos por parte del microorganismo en el medio circundante. Restrepo y Marulanda, (2015) reportan que las grandes cantidades de fosfatos insolubles pueden ser transformados por las bacterias a formas solubles mediante la formación de ácidos orgánicos o asimilación directa de fosfatos, por ello utilizaron el medio de cultivo suplementado con fuentes de P tanto inorgánicas como orgánicas. De la misma forma en el estudio realizado por Moreno *et al.*, (2021) se identificaron bacterias rizosféricas solubilizadoras de fosfatos y su potencial para promover el crecimiento vegetal, en donde utilizaron un medio de cultivo suplementado principalmente con P insoluble para la selección de bacterias, señalando que la producción de halos de solubilización estaría relacionado con la producción de ácidos orgánicos producidos por las bacterias, estos también sugieren que la disponibilidad de fosfato en el medio de cultivo puede ser un factor clave para la formación del halo de solubilización.

La variabilidad en la capacidad de solubilización de fosfato entre diferentes especies bacterianas fue investigada por Sharma *et al.*, (2013), quienes estudiaron bacterias aisladas de suelos agrícolas. Descubrieron que distintas especies bacterianas mostraron una variabilidad significativa en su habilidad para generar un halo de solubilización en el medio de cultivo, con algunas mostrando una alta capacidad de solubilización y otras una capacidad baja o nula. Estos resultados indican que la

capacidad de solubilización puede depender de la especie bacteriana y su actividad metabólica específica.

Por otro lado, Rodríguez *et al.*, (1999) llevaron a cabo un estudio sobre el efecto del pH en la formación del halo de solubilización. Observaron que las bacterias cultivadas en un medio de cultivo ligeramente ácido mostraron una mayor formación del halo de solubilización en comparación con aquellas cultivadas en medios neutros o alcalinos. Estos hallazgos sugieren que el pH del medio de cultivo puede influir en la capacidad de solubilización de fosfato, siendo las condiciones ácidas más propicias para la formación del halo. Es relevante considerar que el tiempo necesario para observar la formación del halo de solubilización puede variar entre diferentes estudios y condiciones experimentales. Por ejemplo, en un estudio realizado por Nadeem *et al.*, (2020), se encontró que algunas bacterias mostraron la formación del halo de solubilización de fosfato después de 10 días de cultivo, mientras que otras lo hicieron en un período más corto de 4 a 5 días.

7.2 Producción de AIA

El reactivo de Kovacs se utiliza como una herramienta para detectar la producción de indol, el cual se origina a partir de la degradación metabólica del aminoácido triptófano (Expósito, *et al.*, 2010). Según el estudio de Kumari *et al.*, (2018), la formación de un anillo de color rojo cereza indica la presencia de Ácido Indol Acético (AIA). Sin embargo, en las bacterias analizadas en este estudio, no se observó esta característica tinción, lo que sugiere que no son capaces de producir AIA.

Spaepen *et al.*, (2007) examinó la síntesis de AIA en bacterias aisladas de las plantas, identificando varias cepas con una notable capacidad de producción. Estas bacterias pertenecían a diversos géneros, como *Azospirillum*, *Pseudomonas* y *Bacillus*. Estos hallazgos sugieren que ciertas bacterias poseen la capacidad de generar AIA, lo que favorece el crecimiento vegetal. Por otro lado, Mitter *et al.*, (2013) investigaron la producción de AIA en bacterias aisladas de la rizosfera de plantas expuestas a estrés salino. Observaron que el estrés salino tuvo efectos divergentes en la producción de AIA, disminuyendo en algunas bacterias y aumentando en otras. Estos resultados destacan el papel del ambiente en la regulación de la capacidad de las bacterias para sintetizar AIA.

7.3 Crecimiento

Los estudios realizados por Chamorro *et al.*, (2020) y Sultan *et al.*, (2023) confirman, a través de análisis, que las bacterias endófitas demuestran la capacidad de sintetizar varias hormonas de crecimiento vegetal que promueven el crecimiento, una de ellas es la solubilización de fosfatos. En este estudio, se pudo observar que las bacterias que solubilizan fosfatos facilitaron el crecimiento de las plántulas, lo cual se evidenció con el 60% de los tratamientos que tuvieron diferencias significativas en comparación del control. También lo confirma el trabajo de Cabrera *et al.*, (2021), en el cual se tomaron raíces de café, y se procedió a aislar y caracterizar las bacterias presentes mediante análisis filogenético e inoculación en semilleros de café, donde concluyeron que se albergan microorganismos con la capacidad de solubilizar fósforo, los cuales presentan un hábito endofítico y tienen la capacidad de promover el crecimiento de las plantas, esto demuestra que las bacterias endófitas interviene en el crecimiento de las plántulas que las poseen.

Galeana *et al.*, (2018) documentaron acerca de la diversidad de bacterias endófitas cultivables asociadas a plantas de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.). Se encontró una mayor densidad poblacional de bacterias endófitas en las raíces en comparación con el tallo y las hojas. Estos hallazgos destacan el posible papel beneficioso de los endófitos bacterianos en las plantas de arándano, así como su potencial como bioinoculantes en otros cultivos agrícolas importantes, lo cual es relevante dado que la especie de estudio pertenece a la misma familia. Además, de acuerdo con Pinski *et al.*, (2019), las interacciones entre bacterias y plantas pueden mejorar la tolerancia de las plantas a las variaciones ambientales y estimular su crecimiento. Por lo tanto, este factor también podría ser relevante y tener un impacto en el crecimiento de las plántulas de *M. rupestris* presentadas en el estudio. De la misma manera Al-Tammar y Khalifa, (2022), mencionan que los microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPB) tienen el potencial de influir en el aumento de la fertilidad del suelo, el crecimiento de las plantas y la productividad a través de una variedad de procesos, que incluyen mecanismos directos, indirectos y sinérgicos. Estos microorganismos desempeñan un papel significativo en la aceleración de la disponibilidad de nutrientes, como el nitrógeno (N) y el fósforo (P).

7.4 Hojas

Según los resultados obtenidos se evidencia que no se mostraron diferencias significativas en la variable de hojas en los tratamientos a comparación al control, lo que

nos indica que en este factor los tratamientos no fueron relevantes. El estudio de Marcos *et al.*, (2016), menciona que la comunidad bacteriana endófito autóctona estaba altamente adaptada dentro de la planta y que la interacción equilibrada entre la planta y las bacterias era bastante estable, por lo cual estas variables no presentaron grandes variaciones.

7.5 Peso seco

De acuerdo a los resultados obtenidos, se presentaron diferencias significativas en la variable peso seco en los tratamientos (T002, T006, T010,T011,T012) en comparación al control, en el estudio de González *et al.*, (2018), señalan que los principales indicadores que influyen en el aumento del peso seco es el número de hojas y la altura de la planta, esto también se señala en el artículo de Peña & Reyes, (2007), en el cual obtuvieron significancia en esta variable, mencionando que esto se debe a la presencia de un alto contenido de nutrientes en el área foliar que podía verse influenciado directamente con el peso seco. Vargas *et al.*, (2001), indica que esto se debe al sinergismo de la bacteria y planta que permite la absorción de elementos esenciales como el P y N que se encuentran en esta, dando a entender que este puede ser el factor determinante para los resultados significativos del estudio. Asimismo, en el caso de Amezcuita *et al.*, (2022), se menciona que el peso seco medido puede deberse a la capacidad de las bacterias como promotoras de crecimiento tanto el área foliar como en las raíces, esto interviniendo directamente en la variable.

7.6 Longitud de raíz

Como se aprecia en la figura 6, se identifican tres tratamientos (T5, T6 y T12) que muestran diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control. Esto sugiere que las bacterias inoculadas en el estudio exhiben características de promoción del crecimiento en las raíces. Este hallazgo encuentra respaldo en el estudio de Jiang *et al.*, (2022), quienes plantean que las interacciones planta-bacteria tienen un efecto promotor del crecimiento en las raíces laterales del trigo. Igualmente, Álvarez *et al.*, (2018) señala que la inoculación de microorganismos endófitos influye positivamente en el crecimiento longitudinal de las raíces favoreciendo el crecimiento vegetal de plantas de fresa. De la misma forma en el estudio de Sánchez *et al.*, (2012) donde se evaluó el efecto de la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en plantas de tomate, se presenció el incremento de la longitud radical por la inoculación bacteriana que pudo estar relacionado con la capacidad de aumentar la disponibilidad de fósforo inorgánico.

8. Conclusión

En conclusión, el estudio de la caracterización de bacterias endófitas en raíces de *M. rupestris* como promotoras de crecimiento vegetal, ha permitido obtener aislamientos de bacterias endófitas encontradas en las raíces de *Macleania rupestris*. Esto demuestra la presencia de una comunidad microbiana diversa y específica en esta especie vegetal. Las bacterias endófitas aisladas han sido caracterizadas mediante la presencia de halos de solubilización. Este enfoque permite evaluar la capacidad de las bacterias para solubilizar nutrientes, como el fósforo, que son esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Además, se realizó la evaluación del impacto de la inoculación de las cepas seleccionadas en el desarrollo de las plántulas. Se encontró que una variedad de cepas endófitas exhibió potencial para solubilizar fosfatos, lo que favorece el crecimiento de las plántulas de *M. rupestris*. La inoculación con estas cepas seleccionadas demostró generar un efecto positivo en el desarrollo de las plántulas.

En general, este estudio ha contribuido a la comprensión de la interacción entre las bacterias endófitas asociadas a *Macleania rupestris*, así como su papel en la promoción del crecimiento vegetal. Los resultados obtenidos, a futuro y con mayor investigación, podrían tener aplicaciones prácticas en la agricultura, constituyendo estos resultados una base inicial sobre la influencia de algunos microorganismos que podrían utilizarse como agentes de biofertilización y contribuir al desarrollo de estrategias de manejo integrado de cultivos de *M. rupestris*, si se desarrolla esta línea de investigación, aprovechando el potencial de las bacterias promotoras del crecimiento para mejorar la salud y la productividad de las plantas. Se recomienda analizar las cepas seleccionadas desde su filogenia e identificarlas, además se sugiere aumentar el tiempo de toma de datos para tener mayor información.

Referencias

- Adriel Dovalsan (director). (2018, mayo 8). *Técnica para el conteo de UFC*.
<https://www.youtube.com/watch?v=QP41nXr8lzo>
- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., & Shahzad, S. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*, 221, 36-49.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
- Afzal, M., Khan, Q. M., & Sessitsch, A. (2014). Endophytic bacteria: Prospects and applications for the phytoremediation of organic pollutants. *Chemosphere*, 117, 232-242.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.078>
- Ali, S., Charles, T., & Glick, B. (2014). Amelioration of high salinity stress damage by plant growth-promoting bacterial endophytes that contain ACC deaminase. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 160-167.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.04.003>
- Al-Tammar, F. K., & Khalifa, A. Y. Z. (2022). Plant growth promoting bacteria drive food security. *Brazilian Journal of Biology*, 82, e267257.
<https://doi.org/10.1590/1519-6984.267257>
- Alvarez, E. R. (2022). Estudio demográfico de la *Macleania rupestris* y *Pernettya prostrata*, en la vegetación análoga de Indiviso, en la parroquia Baquerizo Moreno, cantón Pillaro, provincia de Tungurahua. Riobamba, Ecuador: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA.
- Alvarez, M., Tucta, F., Quispe, E., & Meza, V. (2018). Incidencia de la inoculación de microorganismos benéficos en el cultivo de fresa (*Fragaria sp.*). *Scientia Agropecuaria*, 9(1), 33-42.
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.04>
- Amezquita, C., Coronel Acosta, C., Santos Villalobos., Santoyo, G., Parra Cota, F., (2022). Characterization of native plant growth-promoting bacteria (PGPB) and their effect on the development of maize (*Zea mays L.*). *Biotechnia*, 24(1), 15-22. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v24i1.1353>
- Angulo, V. C., Sanfuentes, E., Rodríguez, F., y Sossa, K. E. (2014). Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. *Revista argentina de microbiología*, 46(4), 338-347.

- Angulo Castro, A., Ferrera Cerrato, R., Alarcón, A., Almaraz Suárez, J., Delgadillo Martínez, J., Jiménez Fernández, M., y García Barradas, O. (2018). Crecimiento y eficiencia fotoquímica del fotosistema en plántulas de 2 variedades de *Capsicum annuum* L. inoculadas con rizobacterias u hongos micorrícicos arbusculares. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(2), 178-188. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.03.011>
- Aquino, J., Junior, F., Antunes, J., Figueiredo, M., Neto, F., & Araujo, A. (2019). Plant growth-promoting endophytic bacteria on maize and sorghum. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 49, 1-9.
- Barboza-García, A., Pérez Cordero, A., Chamorro Anaya, L. (2023). Bacterias endófitas aisladas de cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) con actividad promotora de crecimiento vegetal. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 21(1), 28-39. <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v21.n1.2023.1728>
- Barragán, D. C. (2014). Estudio del comportamiento de *Macleania rupestris* (Kunth), en diferentes tipos de envases y condiciones de temperatura. *Revista Iberoamericana Tecnología Postcosecha*, 77-82.
- Bolívar Anillo, H. J., Contreras Zentella, M. L., & Teherán Sierra, L. G. (2016). *Burkholderia tropica* una bacteria con gran potencial para uso en la agricultura. *TIP*, 19(2), 102-108. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2016.06.003latu>
- Cabrera, E. V. R., Espinosa, Z., Muñoz, R. A. M., Días, V. E. M., & García, J. H. (2021). Evaluación de bacterias endofíticas solubilizadores de fósforo en café, una alternativa sostenible. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 19(2), Article 2. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n2.2021.1554>
- Castrillón, J. C., Carvajal, E., Ligarreto, G., & Magnitskiy, S. (2008). El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale Swartz*) en diferentes sustratos. *Agronomía Colombiana*, 26(1), 16-22.
- Chamorro Anaya, L., y Cordero, P. (2020). *Bacillus cereus* bacteria endófita promotora de crecimiento vegetal. *Revista Colombiana de Biotechnología*, XXII (2), 18-23.

- Corrales Ramírez, L., Caycedo Lozano, L., Gómez Méndez, M., Ramos Rojas, S., Rodríguez Torres, J. (2017). *Bacillus spp*: Una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *Nova*, 15(27), 46-65.
- Coutinho, B., Licastro, D., Mendonça Previato, L., Cámara, M., & Venturi, V. (2015). Plant-Influenced Gene Expression in the Rice Endophyte *Burkholderia kururiensis* M130. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, 28(1), 10-21. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-14-0225-R>
- Curillo, D., Cevallos, J., Chica, E., & Peña, D. (2023). Characterization of the microbial community associated with the roots of joyapa (*Macleania rupestris*) and the effect of fungal isolates on seedling development. *Bionatura*, <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.01.12>.
- De Andrade, L. A., Santos, C. H. B., Frezarin, E. T., Sales, L. R., & Rigobelo, E. C. (2023). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Sustainable Agricultural Production. *Microorganisms*, 11(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>
- Duran Casas, J., Veloza Suan, C., Magnitski, S., & Lancheros, H. O. (2013). Evaluation of uva camarona (*Macleania rupestris* Kunth A.C. Smith) propagation with air layering. *Agronomía Colombiana* 31, 18-26.
- Elvia, J. C., Ortega Rodés, P., y Ortega, E. (2008). La inoculación de plantas con *Pantoea sp.*, bacteria solubilizadora de fosfatos, incrementa la concentración de P en los tejidos foliares. *Revista Colombiana de Biotecnología*, X (1), 111-121.
- Eshaghi, E., Nosrati, R., Owlia, P., Malboobi, A., Ghaseminejad, P., & Ganjali, M. R. (2019). Zinc solubilization characteristics of efficient siderophore-producing soil bacteria. *Iranian Journal of Microbiology*, 11(5), 419-430.
- Elvira Sánchez, R., Lorena Sánchez, B., Monserrat Sandoval, Y., Ulloa, Á., Armendáriz, B., Claudia García, M., y Lydia Macías, M. (2013). Hongos endófitos: Fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP*, 16(2), 132-146.
- Expósito Boué, L., Bott Croublet, A., Drullet Pérez, M., Betancourt Arguello, y Sánchez Romero, M. (2010). Evaluación de reactivo de Kovacs modificado. *Revista Información Científica*, 66(2), abril-junio. Universidad de Ciencias Médicas de Guantánamo, Guantánamo, Cuba.

- Fernández, L. A., Zalba, P., Gómez, M. A., y Sagardoy, M. A. (2005). Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aisladas de suelos de la región sojera. *Ciencia del suelo*, 23(1), 31-37.
- Fuchs, E. J., Ross-Ibarra, J., & Barrantes, G. (2010). Reproductive biology of *Macleania rupestris* (Ericaceae), a pollen-limited Neotropical cloud-forest species in Costa Rica. *Journal of Tropical Ecology*, 26(3), 351-354. <https://doi.org/10.1017/S0266467410000064>
- Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169(1), 30-39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>
- González Aguiar, D., Álvarez Hernández, U., y Lima Orozco, R. (2018). Acumulación de biomasa fresca y materia seca por planta en el cultivo intercalado caupí—Sorgo. *Centro Agrícola*, 45(2), 77-82.
- Guzmán Duchén, D., & Montero Torres, J. (2021). Interacción de bacterias y plantas en la fijación del nitrógeno. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 8(2), 87-101. <https://doi.org/10.53287/uyxf4027gf99e>
- Hardoim, P., van Overbeek, L. S., & Elsas, J. D. van. (2008). Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology*, 16(10), 463-471. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.07.008>
- Hernández Pacheco, E., Orozco Mosqueda, A., Flores, A., Valencia Cantero, E., y Santoyo, G. (2021). Diversidad tisular específica de bacterias endófitas en plantas de tomate de cáscara mexicanas (*Physalis ixocarpa* Brot. Ex Horm.) y detección de sus múltiples actividades promotoras del crecimiento vegetal. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100028. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100028>
- Kumari, S., Prabha, C., Singh, A., Kumari, S., & Kiran, S. (2018). Optimization of Indole-3-Acetic Acid Production by Diazotrophic *B. subtilis* DR2 (KP455653), Isolated from Rhizosphere of *Eragrostis cynosuroides*. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences Vol. 7, No. 2*, 20-27. [10.18178/ijpmbs.7.2.20-27](https://doi.org/10.18178/ijpmbs.7.2.20-27)
- Lagos Burbano, T., Ordóñez Jurado, H., Criollo Escobar, H., Burbano, S., y Martínez, Y. (2010). Descripción de frutales nativos de la familia Ericaceae en el altiplano de Pasto, Colombia. *Revista Colombiana de*

Ciencias Hortícolas, 4(1), Article 1.
<https://doi.org/10.17584/rcch.2010v4i1.1221>

- Lara Mantilla, C., Oviedo Zumaqué, L. E., & Betancur Hurtado, C. A. (2011). Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. *Zootecnia Tropical*, 29(2), 187-194.
- León Fajardo, M., Mancilla Felipez, J., & Ortuño Castro, F. (2019). Evaluación de bacterias endófitas promotoras de crecimiento en el cultivo de quinua. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 7(2), 88-99.
- Lovaia, N., Guevara, E., Delaporte Quintana, P., Elías, J., Arroyo, J., y Salazar, S. (2018). Efecto de la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal en plantas de maíz (*Zea mays* L.). *Revista agronómica del noroeste argentino*, 38(1), 33-38.
- Magdalena Galeana, Hernández Salmerón, J. E., & Valenzuela-Aragón, B. (2018). Diversity of cultivable endophytic bacteria associated whit bluberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi with plant growth-promoting traits. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 140 - 151.
- Marcos, F., Iório, R., Silveira, A., Ribeiro, R., Machado, E., & Lagôa, A. (2016). Endophytic bacteria affect sugarcane physiology without changing plant growth. *Bragantia*, 75(1), 1-9.
- Martău, G. A., Bernadette-Emőke, T., Odocheanu, R., Soporan, D. A., Bochiș, M., Simon, E., & Vodnar, D. C. (2023). *Vaccinium* Species (Ericaceae): Phytochemistry and Biological Properties of Medicinal Plants. *Molecules*, 28(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/molecules28041533>
- Marquez Santacruz, H., Hernandez Leon, R., Orozco Mosqueda, M., Velazquez Sepulveda, I., & Santoyo, G. (2010). Diversity of bacterial endophytes in roots of Mexican husk tomato plants (*Physalis ixocarpa*) and their detection in the rhizosphere. *Genetics and Molecular Research*, 9(4), 2372-2380.
- Medina, J. N., Chimal, C. Y., Gómez, L. B., & Aguilar, J. J. Z. (2014). *Aislados bacterianos con potencial biofertilizante para plántulas de tomate*. 273-281.
- Meléndez Jácome, M., Romero Lorena, Pacheco María., Vásquez Castillo., & Racines Oliva. (2021). *Vaccinium spp.*: Karyotypic and phylogenetic characteristics, nutritional composition, edaphoclimatic conditions, biotic factors and beneficial microorganisms in the rhizosphere. *Scientia*

- Agropecuaria*, 12(1), 109–120.
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.013>.
- Mitter, B., Petric, A., Shin, M. W., Chain, P. S., Hauberg-Lotte, L., Reinhold Hurek, B., Nowak, J., & Sessitsch, A. (2013). Comparative genome analysis of *Burkholderia phytofirmans* PsJN reveals a wide spectrum of endophytic lifestyles based on interaction strategies with host plants. *Frontiers in plant science*, 4, 120. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00120>
- Moreno Conn, L., López Casallas, M., y Cruz Barrera, F. (2021). Solubilización de fosfatos por bacterias del género *Burkholderia* aisladas de oxisoles de la altillanura colombiana. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 22(2). https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num2_art:1897
- Nadeem, N., Asif, R., Ayyub, S., Salman, S., Shafique, F., Ali, Q., & Malik, A. (2020). ROLE OF RHIZOBACTERIA IN PHYTOREMEDIATION OF HEAVY METALS. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 2020(1). <https://doi.org/10.54112/bcsrj.v2020i1.35>
- Nautiyal, C. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170(1), 265-270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- Nyambura, C. (2012). Isolation and identification of endophytic bacteria of bananas (*Musa spp.*) in Kenya and their potential as biofertilizers for sustainable banana production. *African Journal of Microbiology Research*, 6(34). <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1170>
- Peixoto, P., Azevedo, J., & Caetano, L. (2004). Microorganismos endofíticos em plantas: Status atual e perspectivas. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 3(4), 69-72.
- Perez C., Rojas S, y Fuentes C. (2010). Diversidad de bacterias endófitas asociadas a raíces del pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa*) en tres localidades del departamento de Sucre, Colombia. *Acta Biológica Colombiana* 15, n.º 2, 219-28.
- Pérez C., y Chamorro, L. (2013). Bacterias endofitas: Un nuevo campo de investigación para el desarrollo del sector agropecuario. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 5(2), 439-462.
- Pérez, A., Chamorro, L., Doncel A. (2018). Endophytes bacterial growth promoters isolated to colosoana grass, Department of Sucre, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 23(2), 6696-6709. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1347original>

- Pérez, A., Tuberquia, A., y Amell, D. (2014). Actividad in vitro de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2), 214-223.
- Pérez, R., Hernández, I., Sanabria, Y., Salcedo, J. C., Sosa, D., Pérez, S. (2021). Characterization of potassium solubilizing bacteria isolated from corn rhizoplane. *Agronomía Colombiana*, 39(3), 415-425. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v39n3.98522>
- Pérez, R., Oudot, M., Hernández, I., Nápoles, M., Martínez, S., Sosa, D. (2020). Aislamiento y caracterización de *Stenotrophomonas* asociada a rizosfera de maíz (*Zea Mays* L.). *Cultivos Tropicales*, 41(2).
- Pinski, A., Betekhtin, A., Hupert, K., Mur, L., & Hasterok, R. (2019). Defining the Genetic Basis of Plant–Endophytic Bacteria Interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/ijms20081947>
- Rashid, S., Charles, T., & Glick, B. (2012). Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. *Applied Soil Ecology*, 61, 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.09.011>
- Restrepo Franco, G., y Marulanda Moreno, S. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 46(1), 63-76.
- Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4-5), 319–339. [https://doi.org/10.1016/s0734-9750\(99\)00014-2](https://doi.org/10.1016/s0734-9750(99)00014-2)
- Rodríguez Mendoza, C., Hernández, L., Pérez Armendáriz, B., Juárez, Z., Rodríguez Mendoza, C., Hernández, L., Pérez Armendáriz, B., y Juárez, Z. (2021). Bacterias y hongos endófitos de la familia Cactaceae y sus aplicaciones. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 24. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.328>
- Romero Perdomo, F., Abril, J., Camelo, M., Moreno Galván., Pastrana, I., Rojas Tapias, D., y Bonilla, R. (2017). *Azotobacter chroococcum* como biofertilizante bacteriano potencialmente útil para el algodón (*Gossypium hirsutum*): Efecto en la reducción de la fertilización con N. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(4), 377-383. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.04.006>

- Sánchez López, D., Gómez Vargas, R., Garrido Rubiano, M., & Bonilla Buitrago, R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(7), 1401-1415.
- Sánchez Bautista, A., León García de Alba, C., Aranda Ocampo, S., Zavaleta Mejía, E., Nava Díaz, C., Goodwin, P., Leyva Mir, S. (2018). Bacterias endófitas de la raíz en líneas de maíces tolerantes y susceptibles a sequía. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(1), 35-55. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1710-3>
- Santoyo, G., Moreno Hagelsieb, G., del Carmen Orozco Mosqueda, Ma., & Glick, B. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
- Schmidt Durán, A., y Chacón Cerda, R. (2021). Optimización de las condiciones de crecimiento de la bacteria endófita *Klebsiella oxytoca* en matraz y en biorreactor. *Tecnología en Marcha*, 34(4), 92-104.
- Senasica. (2020). Ficha Técnica: Aislamiento de bacterias fitopatógenas y pruebas de patogenicidad. *Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria*.
- Sharma, S., Sayyed, R., Trivedi, M., Thivakaran, A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus* 2, 587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
- Soroa Bell, M., Hernández Fernández, A., Soto Carreño, F., & Terry Alfonso, E. (2009). Inoculation responses with beneficial microorganisms in gerbera taking into account rizosphere characterization. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 41-48. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2009.15.048>
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS microbiology reviews*, 31(4), 425–448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>
- Ștefănescu, B., Szabo, K., Mocan, A., & Crișan, G. (2019). Phenolic Compounds from Five Ericaceae Species Leaves and Their Related Bioavailability and Health Benefits. *Molecules*, 24(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/molecules24112046>

- Sultan, M., Elsayed, A., & El-Amier, Y. (2023). Primer Informe de Bacterias Endofíticas Aisladas de *Senecio glaucus* L., Egipto. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 38(2), 82-95.
- Timofeeva, A., Galyamova, M. R., & Sedykh, S. (2023). Plant Growth-Promoting Soil Bacteria: Nitrogen Fixation, Phosphate Solubilization, Siderophore Production, and Other Biological Activities. *Plants*, 12(24), Article 24. <https://doi.org/10.3390/plants12244074>
- Torres Perez, M., Vitola Romero, D., & Pérez Cordero, A. (2019). Biorremediación de mercurio y níquel por bacterias endófitas de macrófitas acuáticas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(2 (Julio-diciembre), 36-44.
- Torres, C., y Sanchez M. (2012). Aislamiento e identificación de bacterias solubilizadoras de fosfatos, habitantes de la rizósfera de chontaduro (b. *Gassipaes kunth*). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(2), Article 2.
- Vargas Barrante, P., Castro Barquero, L., Vargas Barrante, P., y Castro Barquero, L. (2019). Aislamiento y evaluación de microorganismos solubilizadores de fósforo de Andisoles de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 43(1), 47-68. <https://doi.org/10.15517/rac.v43i1.35649>
- Vargas, P., Ferrera Cerrato, R., & Almaraz Suárez, J. (2001). Inoculación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en lechuga. *Terra Latinoamericana*, 327-335.
- Velasco Jiménez, A., Castellanos Hernández, O., Acevedo Hernández, G., Aarland, R., & Rodríguez Sahagún, A. (2022). Rhizospheric bacteria with potential benefits in agriculture. *Advances in Modern Agriculture*, 3(1), 2040. <https://doi.org/10.54517/ama.v3i1.2040>
- Velázquez, M., Cabello, M., Elíades, L., Russo, M., Allegrucci, N., y Schalamuk, S. (2017). Combinación de hongos movilizadores y solubilizadores de fósforo con rocas fosfóricas y materiales volcánicos para la promoción del crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Revista Argentina de Microbiología*, 49(4), 347-355. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.07.005>
- Velázquez Gurrola, A. (2015). Beneficios de microorganismos solubilizadores de P y K en la recuperación y mantenimiento de suelos agrícolas. *VIII Congreso Mundial de la Palta*, 495-499.

- Veloza, C., Santiago Mutis Durán, Stanislav Magnitskiy, & Héctor Orlando Lancheros. (2014). Rooting Ability of Stem Cuttings of *Macleania rupestris* Kunth A.C. Sm., a South American Fruit Species. *International Journal of Fruit Science*, 14(4), 343–361. <https://doi.org/10.1080/15538362.2014.897889>
- Wang, Q., Wang, C., Yu, W., Turak, A., Chen, D., Huang, Y., Ao, J., Jiang, Y., & Huang, Z. (2018). Effects of Nitrogen and Phosphorus Inputs on Soil Bacterial Abundance, Diversity, and Community Composition in Chinese Fir Plantations. *Frontiers in microbiology*, 9, 1543. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01543>
- Woźniak, M., Tyśkiewicz, R., Siebielec, S., Gałazka, A., & Jaroszuk-Ścisel, J. (2023). Metabolic Profiling of Endophytic Bacteria in Relation to Their Potential Application as Components of Multi-Task Biopreparations. *Microbial Ecology*, 86(4), 2527-2540. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02260-4>

Anexos

Presentados de acuerdo a los objetivos:

1- *Identificar bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal en plántulas de M. rupestris.*

- Proceso de selección bacteriana

Desinfección:

En las siguientes Imágenes 1,2 y 3, se puede observar el proceso de desinfección, fotos tomadas por Jennifer Castro.



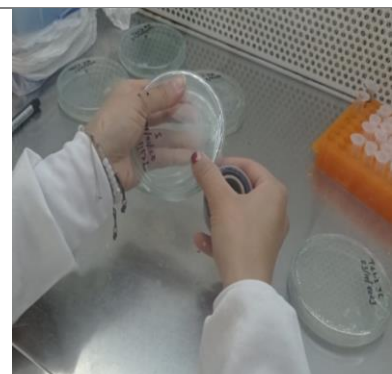
Img. 1: Peso de las raicillas

Img. 2: Raicillas ya pesadas

Img. 3: Desinfección

Aislamiento:

En las siguientes Imágenes 4, 5 y 6, se puede observar el proceso de aislamiento, fotos tomadas por Jennifer Castro.



Img. 4: Corte y maceración de raicillas para las diluciones

Img. 5: Siembra de las diluciones en Agar nutritivo

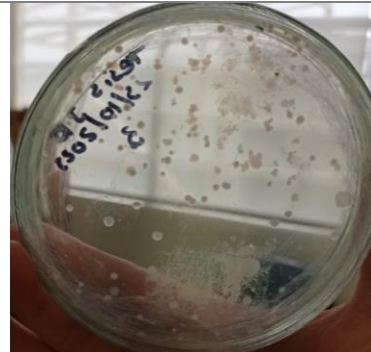
Img. 6: Sellado de cajas Petri

Selección de cepas bacterianas de acuerdo a su morfología

En las siguientes Imágenes 7, 8 y 9, se visualiza las bacterias obtenidas de las diluciones 10^{-3} - 10^{-4} - 10^{-5} sembradas en agar nutritivo, tomadas por Kerly Díaz.



*Img. 7: Dilución 10^{-3}
sembrada en agar nutritivo*



*Img. 8: Dilución 10^{-4}
sembrada en agar nutritivo*



*Img. 9: Dilución 10^{-5}
sembrada en agar nutritivo*

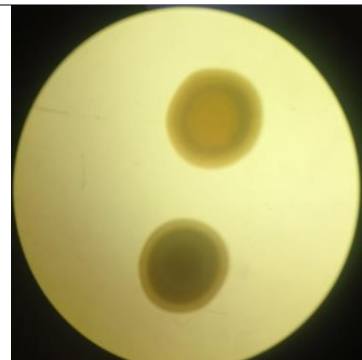
En las siguientes Imágenes 10, 11 y 12, se visualizan las bacterias obtenidas de las diluciones, y se seleccionan de acuerdo a su morfología, tomadas por Kerly Díaz.



*Img. 10: Bacterias
obtenidas de las
diluciones*



*Img. 11: Bacterias
obtenidas de las diluciones*



*Img. 12: Bacterias
obtenidas de las diluciones*

2. Evaluar el efecto de la inoculación de las cepas seleccionadas en el desarrollo de *M. rupestris*.

Diseño Experimental

En el Anexo 1, se puede visualizar los tratamientos los cuales 12 son correspondiente a las bacterias y C que sería el control.

Anexo 1: Tratamientos de las respectivas bacterias escogidas para el estudio.

Tratamientos

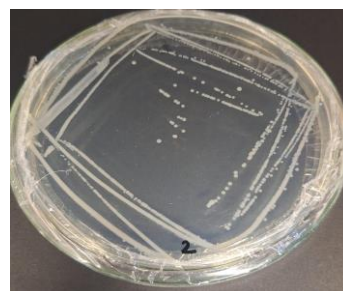
T1

C001



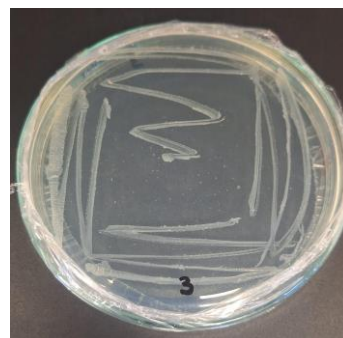
T2

C002



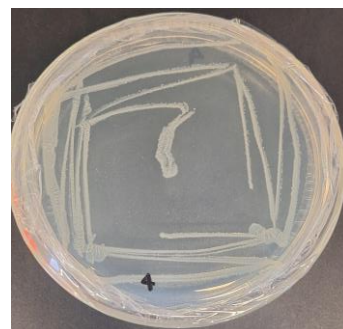
T3

C003



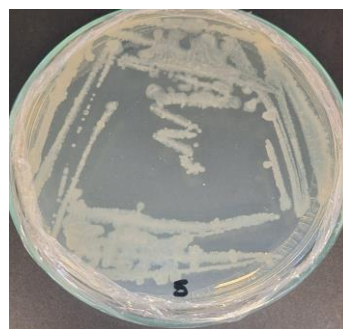
T4

C004



T5

C005



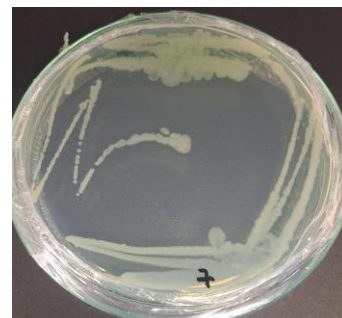
T6

C006



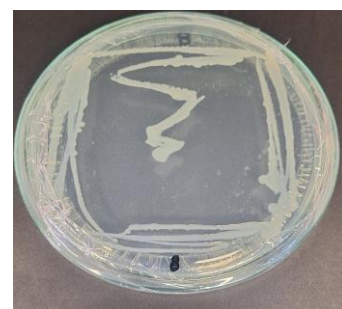
T7

C007



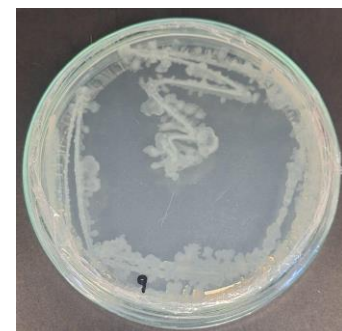
T8

C008



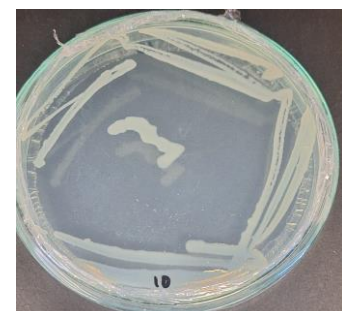
T9

C009



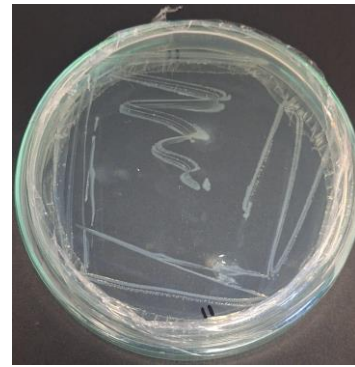
T10

C010



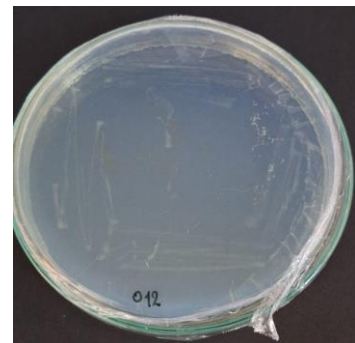
T11

C011



T12

C012



Inoculación en las plántulas de *M. rupestris*

En las Imágenes 13 y 14, se presencia el proceso de inoculación de los 12 tratamientos y el control.



Imagen 13: Inoculación de las bacterias en las plántulas de *M. rupestris*

Imagen 14: Materiales para la inoculación de las bacterias en las plántulas de *M. rupestris*

Toma de datos de las plántulas de *M. rupestris*.

En las Imágenes 15, 16 y 17, se visualiza la toma de datos de las plántulas de *M. rupestris*, fotos tomadas por Jennifer Castro



Img 15: Toma de datos de las plántulas de *M. rupestris*.

Img 16: Toma de datos de las plántulas de *M. rupestris*.

Img 17: Toma de datos de las plántulas de *M. rupestris*.

Plántulas de *M. rupestris*

En las Imágenes 18, 19 y 20, se visualiza la toma de datos de las plántulas de *M. rupestris*, fotos tomadas por Jennifer Castro



Img 18: Plántulas de *M. rupestris*

Img 19: Plántulas de *M. rupestris*

Img 20: Plántulas de *M. rupestris*

Longitud de raíz de las plántulas de *M. rupestris*

En las siguientes imágenes se puede observar 3 plántulas de *M. rupestris* de cada tratamiento para la visualización de la longitud de raíces, estas plántulas fueron escogidas al azar.

Imagen 21: Visualización de la longitud de raíces de los 12 tratamientos y su control.



Análisis estadístico

Anexo 2. Análisis estadístico de la variable peso seco (mg).

Peso seco (mg)			
Shapiro-Wilk normality test			
W	p-value		
0.84015	6.338e-05		
Bartlett test of homogeneity of variances			
	K-squared	df	p-value
Bartlett's	21.784	12	0.04001

Anexo 3. Análisis estadístico de la variable crecimiento (cm).

Crecimiento (cm)			
Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test			
D	p-value		
0.108	0.00135		
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = "median")			
	Df	F value	Pr(>F)
group	12	0.4954	0.9136
	109		
Kruskal-Wallis rank sum test			
Kruskal-Wallis chi-squared = 22.513, df = 12, p-value = 0.03216			
Wilcoxon rank sum test with continuity correction			
	W	p-value	

Control – T1	20.5	0.09037
Control – T2	9.5	0.02067
Control – T3	10	0.01384
Control – T4	14.5	0.02594
Control – T5	7	0.003789
Control – T6	15	0.02915
Control – T7	28	0.3054
Control – T8	11.5	0.02076
Control – T9	27	0.4114
Control – T10	12.5	0.02661
Control – T11	23	0.1418
Control – T12	2	0.0008308

Anexo 4. Análisis estadístico de la variable Longitud (cm).

Longitud (cm)				
Shapiro-Wilk normality test				
W	p-value			
0.96479	0.2566			
Bartlett test of homogeneity of variances				
	K-squared	df	p-value	
Bartlett's	19.684	12	0.07331	
ANOVA				
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value
Pr(>F)				
longitud\$Tratamiento	12	49.20	4.100	4.928
0.000328 ***				
Residuals	26	21.63	0.832	

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tukey multiple comparisons of means

95% family-wise confidence level

	diff	lwr	upr	p adj
T1-C	0.10000000	-2.60644203	2.80644203	1.0000000
T2-C	0.86666667	-1.83977536	3.57310870	0.9916443
T3-C	1.13000000	-1.57644203	3.83644203	0.9389245
T4-C	1.93333333	-0.77310870	4.63977536	0.3601001
T5-C	2.91666667	0.21022464	5.62310870	0.0263855
T6-C	2.86666667	0.16022464	5.57310870	0.0307985
T7-C	2.18333333	-0.52310870	4.88977536	0.2068968
T8-C	0.06666667	-2.63977536	2.77310870	1.0000000
T9-C	-0.06666667	-2.77310870	2.63977536	1.0000000
T10-C	2.08333333	-0.62310870	4.78977536	0.2613111
T11-C	1.74333333	-0.96310870	4.44977536	0.5101410
T12-C	3.00000000	0.29355797	5.70644203	0.0203256

Anexo 5. Análisis estadístico de la variable Número de hojas

Número de hojas

Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test

D = 0.087719 p-value = 0.02214

Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = "median")

	Df	F value	Pr(>F)
group	12	1.0009	0.4532

109

Kruskal-Wallis rank sum test

	chi-squared	df	p-value
Kruskal-Wallis	16.764	12	0.1587
