



**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA**

*Comunidad Educativa al servicio del Pueblo*

**UNIDAD ACADÉMICA DE INGENIERÍA, INDUSTRIA Y  
CONSTRUCCIÓN**

**CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Caracterización de microorganismos benéficos de la filósfera  
de café (*Coffea arabica*), banano (*Musa paradisiaca*) y limón  
(*Citrus limon*) procedentes de tres regiones naturales del  
Ecuador.**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL**

**AUTOR: ÁLVARO PATRICIO BLANDÍN ARÉVALO**

**DIRECTOR: ING. JACINTO ENRIQUE VÁZQUEZ V., Ph.D.**

**MATRIZ CUENCA**

**2019**

## DECLARACIÓN

Yo, Álvaro Patricio Blandín Arévalo, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento; y eximo expresamente a la Universidad Católica de Cuenca y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

La Universidad Católica de Cuenca puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y la normatividad institucional vigente.



**Álvaro Patricio Blandín Arévalo**

## CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Álvaro Patricio Blandín Arévalo, bajo mi supervisión.



---

**ING. JACINTO ENRIQUE VÁZQUEZ VÁZQUEZ., PH.D.**

**DIRECTOR**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco de manera muy especial a mi director de tesis Ing. Jacinto Vázquez Vázquez y al Ing. Manuel Álvarez Vera por su valiosa guía durante todo el trabajo de titulación.

También quiero agradecer al Ingeniero Jorge Castillo, gracias por todo su apoyo y amistad durante todo este proceso de aprendizaje.

Un agradecimiento muy especial a la Ingeniera Diana Macancela, mi eterna gratitud por todo el apoyo recibido.

Gracias a todos mis amigos y a las personas que han aportado de manera positiva para mi crecimiento académico y personal, gracias Nelson, Ismael y Jennifer.

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de titulación principalmente a mis padres, quienes me han apoyado incondicionalmente en cada paso de mi vida, brindándome la fortaleza y seguridad necesaria para seguir adelante. También dedico este proyecto a mis hermanos Fernando y David, “bicho” la vida te ha dado la oportunidad de seguir con nosotros, lo que me llena de alegría al igual que a toda la familia y amigos (ya levanta el pelito).

***Álvaro Patricio Blandín Arévalo***

## ÍNDICE DE CONTENIDO

DECLARACIÓN	ii
CERTIFICACIÓN	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	v
ÍNDICE DE CONTENIDO	vi
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABLAS	xiii
LISTA DE ANEXOS	xv
RESUMEN	xvi
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO I	- 1 -
1. INTRODUCCIÓN	- 1 -
CAPÍTULO II	- 3 -
2. REVISIÓN DE LITERATURA	- 3 -
2.1 Microorganismos benéficos	- 3 -
2.1.1 ¿Qué son los microorganismos benéficos?	- 3 -
2.1.2 Diversidad de los microorganismos benéficos.	- 3 -
2.1.3 Principales tipos de microorganismos benéficos.	- 3 -
2.1.3.2 Bacterias Ácido Lácticas.	- 4 -
2.2 Funciones de los microorganismos benéficos	- 5 -
2.2.1 Regulación del crecimiento vegetativo.	- 6 -
2.2.2 Fijación de nitrógeno.	- 7 -
2.2.3 Síntesis y promoción de reguladores del crecimiento vegetativo.	- 8 -
2.2.4 Producción de sideróforos.	- 9 -
2.2.5 Importancia física de los microorganismos benéficos.	- 10 -
2.3 Medios de cultivos para microorganismos benéficos	- 10 -
2.3.1 Medios de cultivos para bacterias fotosintéticas.	- 10 -

2.3.2 Medios de cultivos para levaduras. _____	- 11 -
2.3.3 Medios de cultivos para bacterias ácido lácticas. _____	- 11 -
2.4 Aislamiento y cultivo de microorganismos benéficos _____	- 12 -
2.4.1 Aislamiento de microorganismos benéficos. _____	- 12 -
2.5 Técnicas de siembra de bacterias y levaduras. _____	- 12 -
2.5.1 Técnica simplificada de estría cruzada. _____	- 12 -
2.6 Siembra de hongos filamentosos _____	- 13 -
2.7 Caracterización de microorganismos _____	- 13 -
2.7.1 Métodos basados en criterios morfológicos. _____	- 13 -
2.7.2 Métodos basados en tinción diferencial. _____	- 13 -
2.8 Ubicación de los microorganismos benéficos en los vegetales _____	- 14 -
2.8.1 Filósfera. _____	- 14 -
2.8.2 Rizósfera. _____	- 14 -
2.9 Supervivencia de los microorganismos en la filósfera _____	- 15 -
2.10 Microorganismos presentes en la filósfera vegetal _____	- 15 -
2.11 Condiciones necesarias para el desarrollo de microorganismos benéficos en la filósfera _____	- 15 -
2.11.1 pH. _____	- 15 -
2.11.2 Oxígeno disponible. _____	- 15 -
2.12 Regiones climáticas del Ecuador _____	- 16 -
2.12.1 Zona climática tropical húmeda. _____	- 16 -
2.12.2 Zona climática tropical de monzón. _____	- 16 -
2.12.3 Zona climática mesotérmica húmeda. _____	- 16 -
2.13 Especies vegetales en estudio _____	- 17 -
2.13.1 Café ( <i>Coffea arabica</i> ). _____	- 17 -
2.13.2 Banano ( <i>Musa paradisiaca</i> ). _____	- 18 -
2.13.3 Limón ( <i>Citrus limon</i> ). _____	- 18 -
CAPÍTULO III _____	- 19 -
3. MATERIALES Y MÉTODOS _____	- 19 -

3.1 Zona de estudio _____	- 19 -
3.2 Recolección de muestras vegetales _____	- 19 -
3.3 Preparación del cultivo madre _____	- 23 -
3.4 Producción de microorganismos benéficos _____	- 24 -
3.5 Caracterización de microorganismos benéficos _____	- 25 -
CAPÍTULO IV _____	- 26 -
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES _____	- 26 -
4.1 Evaluación de pH _____	- 26 -
4.1.1 Determinación del pH en el medio de cultivo madre _____	- 26 -
4.1.1.1 Evaluación del pH en el medio de cultivo madre de las muestras provenientes de la Región Costa. _____	- 26 -
4.1.1.2 Evaluación del pH en el medio de cultivo madre de las muestras provenientes de la Región Sierra. _____	- 27 -
4.1.1.3 Evaluación del pH en el medio de cultivo madre de las muestras provenientes de la Región Amazónica. _____	- 28 -
4.1.2 Registro de pH en la producción de microorganismos benéficos procedentes de las diferentes regiones naturales del Ecuador _____	- 29 -
4.1.2.1 Registro de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras provenientes de la Región Costa. _____	- 29 -
4.1.2.2 Registro de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras provenientes de la Región Sierra. _____	- 30 -
4.1.2.3 Registro de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras provenientes de la Región Amazónica. _____	- 30 -
4.2 Unidades formadoras de colonias de microorganismos benéficos (UFC.ml <sup>-1</sup> ) _____	- 33 -
4.2.1 Unidades formadoras de colonias de microorganismos benéficos de acuerdo a su Región natural de procedencia (log UFC.ml <sup>-1</sup> ). _____	- 33 -
4.2.1.1 Unidades formadoras de colonias en los consorcios microbianos provenientes de la Región Costa. _____	- 33 -
4.2.1.2 Unidades formadoras de colonias en los consorcios microbianos provenientes de la Región Sierra. _____	- 35 -

4.2.1.3 Unidades formadoras de colonias en los consorcios microbianos provenientes de la Región Amazónica.	- 37 -
4.2.2.1 Unidades formadoras de colonias en los consorcios microbianos presentes en la filósfera de <i>Coffea arabica</i> .	- 38 -
4.2.2.2 Unidades formadoras de colonias presentes en la filósfera de <i>Musa paradisiaca</i> .	- 40 -
4.2.2.3 Unidades formadoras en los consorcios microbianos presentes en la filósfera de <i>Citrus limon</i> .	- 42 -
4.2.3 Unidades formadoras de colonias por especie de microorganismos benéficos (UFC.ml <sup>-1</sup> )	- 45 -
4.2.3.1 Unidades formadoras de colonias de <i>Actinomyces sp.</i>	- 45 -
4.2.3.2 Unidades formadoras de colonias de <i>Arthrobacter sp.</i>	- 46 -
4.2.3.3 Unidades formadoras de colonias de <i>Bacillus subtilis</i> .	- 47 -
4.2.3.4 Unidades formadoras de colonias de <i>Bacillus amynoliquefaciens</i> .	- 48 -
4.2.3.5 Unidades formadoras de colonias de <i>Devaromyces sp.</i>	- 49 -
4.2.3.6 Unidades formadoras colonias de <i>Enterobacter sp.</i>	- 50 -
4.2.3.7 Unidades formadoras de colonias de <i>Hanseniaspora sp.</i>	- 51 -
4.2.3.8 Unidades formadoras colonias de <i>Kloekera sp.</i>	- 52 -
4.2.3.9 Unidades formadoras de colonias de <i>Kluyveromyces sp.</i>	- 53 -
4.2.3.10 Unidades formadoras de colonias de <i>Lactobacillus acidophilus</i> .	- 54 -
4.2.3.11 Unidades formadoras de colonias de <i>Lactobacillus plantarum</i> .	- 55 -
4.2.3.12 Unidades formadoras de colonias de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> .	- 56 -
4.2.3.13 Unidades formadoras de colonias de <i>Paenibacillus sp.</i>	- 57 -
4.2.3.14 Unidades formadoras de colonias de <i>Pseudomonas sp.</i>	- 58 -
4.2.3.15 Unidades formadoras de colonias de <i>Pichia sp.</i>	- 59 -
4.2.3.16 Unidades formadoras de colonias de <i>Saccharomyces cerevisae</i> .	- 60 -
4.2.3.17 Unidades formadoras de colonias de <i>Saccharomyces sp.</i>	- 61 -
CAPÍTULO V	- 63 -
5. CONCLUSIONES	- 63 -
CAPÍTULO VI	- 65 -

6. RECOMENDACIONES	- 65 -
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	- 66 -
ANEXOS	- 70 -

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Mecanismos de división celular en vegetales propiciados por levaduras.	- 5 -
<b>Figura 2:</b> Vía de regulación de crecimiento radicular mediado por ácido indol acético (IAA) a nivel de citosol celular.	- 7 -
<b>Figura 3:</b> Esquema de la promoción del crecimiento vegetativo mediada por hongos micorrizógenos arbusculares (HMA).	- 7 -
<b>Figura 4:</b> Mecanismo de fijación del nitrógeno atmosférico mediado por rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR).	- 8 -
<b>Figura 5:</b> Ruta de síntesis de diversas hormonas vegetales responsables de acelerar el crecimiento vegetativo	- 9 -
<b>Figura 6:</b> Ruta de promoción del crecimiento vegetativo mediada por complejos ferrosidóforos radiomarcados en microorganismos.	- 10 -
<b>Figura 7:</b> Zona de estudio.	- 19 -
<b>Figura 8:</b> M1: Planta de banano ( <i>Musa paradisiaca</i> )	- 20 -
<b>Figura 9:</b> M2: Planta de café ( <i>Coffea arabica</i> )	- 20 -
<b>Figura 10:</b> M3: Planta de limón ( <i>Citrus limon</i> )	- 20 -
<b>Figura 11:</b> Mapa ubicación de muestras recolectadas en la Región Costa (Cantón Machala)	- 20 -
<b>Figura 12:</b> Mapa ubicación de muestras recolectadas en la Región Sierra (Cantón Cuenca).	- 21 -
<b>Figura 13:</b> Mapa ubicación de muestras recolectadas en la Región Amazónica (Cantón Limón Indanza)	- 21 -
<b>Figura 14:</b> Lectura de coordenadas geográficas	- 22 -
<b>Figura 15:</b> Recolección de muestras	- 22 -
<b>Figura 16:</b> Bolsas plásticas con el preparado de sal, hígado y las muestras vegetales.	- 23 -
<b>Figura 17:</b> Solución madre preparada	- 23 -
<b>Figura 18:</b> Preparación del medio de cultivo.	- 24 -
<b>Figura 19:</b> Autoclavado del medio de cultivo	- 24 -
<b>Figura 20:</b> Envases con medio de cultivo.	- 24 -
<b>Figura 21:</b> Variación de pH en los medios de cultivo madre de las muestras procedentes de la Región Costa.	- 26 -
<b>Figura 22:</b> Variación de pH en los medios de cultivo madre de las muestras procedentes de la Región Sierra	- 27 -
<b>Figura 23:</b> Variación de pH en los medios de cultivo madre de las muestras procedentes de la Región Amazónica	- 28 -

<b>Figura 24:</b> Variación de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras de la Región Costa	- 29 -
<b>Figura 25:</b> Variación de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras provenientes de la Región Sierra.	- 30 -
<b>Figura 26:</b> Variación de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras provenientes de la Región Amazónica.	- 31 -
<b>Figura 27:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Costa.	- 34 -
<b>Figura 28:</b> Comparación de log UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Sierra.	- 36 -
<b>Figura 29:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Amazónica.	- 38 -
<b>Figura 30:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: <i>Coffea arabica</i> .	- 40 -
<b>Figura 31:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: <i>Musa paradisiaca</i> .	- 41 -
<b>Figura 32:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: <i>Citrus limon</i> .	- 43 -
<b>Figura 33:</b> Comparación de UFC ml <sup>-1</sup> de <i>Actinomyces sp.</i>	- 45 -
<b>Figura 34:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Arthrobacter sp.</i>	- 46 -
<b>Figura 35:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Bacillus subtilis</i> .	- 47 -
<b>Figura 36:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Bacillus amynoliquefaciens</i> .	- 48 -
<b>Figura 37:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Devaromyces sp.</i>	- 49 -
<b>Figura 38:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Enterobacter sp.</i>	- 50 -
<b>Figura 39:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Hanseniaspora sp.</i>	- 51 -
<b>Figura 40:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Kloekera sp.</i>	- 52 -
<b>Figura 41:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Kluyveromyces sp.</i>	- 53 -
<b>Figura 42:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Lactobacillus acidophilus</i> .	- 54 -
<b>Figura 43:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Lactobacillus plantarum</i> .	- 55 -
<b>Figura 44:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> .	- 56 -
<b>Figura 45:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Paenibacillus sp.</i>	- 57 -
<b>Figura 46:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Pseudomonas sp.</i>	- 58 -
<b>Figura 47:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Pichia sp.</i>	- 59 -
<b>Figura 48:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	- 60 -
<b>Figura 49:</b> Comparación de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Saccharomyces sp.</i>	- 61 -

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Tabla resumen con las principales propiedades diferenciadoras entre bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas. _____	- 13 -
<b>Tabla 2:</b> Codificación de las muestras vegetales de acuerdo a la Región natural de su procedencia. _____	- 22 -
<b>Tabla 3:</b> Ingredientes y proporciones necesarios para la preparación de la solución madre de microorganismos benéficos. _____	- 23 -
<b>Tabla 4:</b> Ingredientes y proporciones necesarias para la producción de microorganismos benéficos _____	- 24 -
<b>Tabla 5:</b> Valores de pH registrados en muestras de la Región Costa _____	- 26 -
<b>Tabla 6:</b> Valores de pH registrados en muestras de la Región Sierra _____	- 27 -
<b>Tabla 7:</b> Valores de pH en el cultivo madre de las muestras procedentes de procedentes de la Región Costa. _____	- 28 -
<b>Tabla 8:</b> Valores de pH en los medio de cultivo de MOBs procedentes de la Región Costa _____	- 29 -
<b>Tabla 9:</b> Valores de pH en los medio de cultivo de MOBs provenientes de la Región Sierra. _____	- 30 -
<b>Tabla 10:</b> Valores de pH en los medio de cultivo de MOBs procedentes de la Región Amazónica. _____	- 31 -
<b>Tabla 11:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Costa. _____	- 33 -
<b>Tabla 12:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Sierra _____	- 35 -
<b>Tabla 13:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Amazónica. _____	- 37 -
<b>Tabla 14:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: <i>Coffea arabica</i> . _____	- 39 -
<b>Tabla 15:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: <i>Musa paradisiaca</i> _____	- 40 -
<b>Tabla 16:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: <i>Citrus limon</i> _____	- 42 -
<b>Tabla 17:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Actinomyces sp.</i> _____	- 45 -
<b>Tabla 18:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Arthrobacter sp.</i> _____	- 46 -
<b>Tabla 19:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Bacillus subtilis</i> . _____	- 47 -
<b>Tabla 20:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Bacillus amynoliquefaciens</i> . _____	- 48 -

<b>Tabla 21:</b> Resultados de UFC ml <sup>-1</sup> de <i>Devaromyces sp.</i> _____	- 49 -
<b>Tabla 22:</b> Resultados de UFC de <i>Enterobacter sp.</i> _____	- 50 -
<b>Tabla 23:</b> Resultados de UFC ml <sup>-1</sup> de <i>Hanseniaspora sp.</i> _____	- 51 -
<b>Tabla 24:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Kloeckera sp.</i> _____	- 52 -
<b>Tabla 25:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Kluyveromyces sp.</i> _____	- 53 -
<b>Tabla 26:</b> Resultados de UFC ml <sup>-1</sup> de <i>Lactobacillus acidophilus.</i> _____	- 54 -
<b>Tabla 27:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Lactobacillus plantarum.</i> _____	- 55 -
<b>Tabla 28:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Lactobacillus rhamnosus.</i> _____	- 56 -
<b>Tabla 29:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Paenibacillus sp.</i> _____	- 57 -
<b>Tabla 30:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Pseudomonas sp.</i> _____	- 58 -
<b>Tabla 31:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Pichia sp.</i> _____	- 59 -
<b>Tabla 32:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Saccharomyces cerevisiae.</i> _____	- 60 -
<b>Tabla 33:</b> Resultados de UFC.ml <sup>-1</sup> de <i>Saccharomyces sp.</i> _____	- 61 -
<b>Tabla 34:</b> Beneficios de las poblaciones microbianas a cada especie vegetal en estudio en base a las referencias de diferentes autores en estudio. _____	- 62 -

## LISTA DE ANEXOS

**Anexo 1:** Fotografías de recolección de muestras. \_\_\_\_\_ - 70 -

**Anexo 2:** Tabla de resultados de caracterización de microorganismos benéficos proporcionados por el laboratorio. \_\_\_\_\_ - 71 -

## RESUMEN

Con el objetivo de caracterizar microorganismos benéficos presentes en la filósfera de tres especies vegetales, Café (*Coffea arabica*), Banano (*Mussa paradisiaca*) y Limón (*Citrus limón*), procedentes de tres regiones del Ecuador (Costa, Sierra y Amazonia), se recolectaron muestras de cada una de las especies en las provincias de El Oro, Azuay y Morona Santiago, para obtener un cultivo madre, el mismo que tras haber sido activado se identificó los microorganismos benéficos con potencial agrícola, económico y ambiental y se determinaron sus unidades formadoras de colonias (UFC.ml<sup>-1</sup>). Se identificaron microorganismos agrupados en seis géneros microbianos: Levaduras, Bacillus, Lactobacillus, Actinomicetos, Pseudomonas y Enterobacterias. Las plantas de café de las tres regiones presentaron una elevada población de Levaduras con un promedio de 1,0115978 log UFC.ml<sup>-1</sup>, mientras que en el banano el consorcio microbiano predominante fue las bacterias ácido lácticas con una población promedio de 1,9640 log UFC.ml<sup>-1</sup>. A nivel de las tres regiones el limón presentó una elevada población de bacterias ácido lácticas, particularmente de *Lactobacillus Acidophilus*, con un promedio total de 0,66565387 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Se concluye que hay variación de las poblaciones de los consorcios microbianos de la filósfera dependiendo de las especies vegetales y de las regiones, con mayor influencia de los factores fitoquímicos inherentes al vegetal de donde son recolectados, frente a la Región de donde proceden.

**PALABRAS CLAVE:** FILÓSFERA, MICROORGANISMOS BENÉFICOS, UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS, REGIÓN, COSTA, SIERRA, AMAZONÍA.

## ABSTRACT

With the objective of characterize the benefic microorganism which are in the phyllosphere of there vegetal specie, coffee (*coffee Arabica*), banana (*mussa paradisiaca*) and Lemon V(*Citrus limon*), which come from three different regions of Ecuador ( Coastal, H>highlands and Amazon region), it was collected samples from each specie in Oro, Azuay and Morona Santiago provinces, to get a stock culture, which when was activated, the microorganisms with Agricola, economic and environmental potential were identified to determine the colony formers unit (CFUs). The coffee plants in the three regions presented a high number of yeasts with an average of 1,0115978 log UFC.ml<sup>-1</sup>, while in the banana plant the number of lactic acid bacteria was predominant about 1,9640 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Similar situation in the lemon was presented, since the level in the three regions presented a high number lactic of acid bacteria particularly the Lactobacillus Acidophilus, with an average of 0,66565387 log UFC.ml<sup>-1</sup>. As conclusion there is a variation of the number of bacteria in the phyllosphere, it depends of the vegetal specie and the regions with a grayter influence of the phytochemical factors inherent to the vegetal where they are collected, in front o the region where they come from.

**KEY WORDS:** PHYLLOSPHERE MICROORGANISMS, BENEFITS, COLONY FORMERS UNIT, REGION, COASTAL, HIGHLANDS, AMAZON.

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUCCIÓN

Entre los efectos del acelerado crecimiento poblacional tenemos la gran demanda de alimentos, lo que ha generado el uso de un sistema de cultivo intensivo, afectando no solo la fertilidad del suelo, sino también la calidad de los alimentos y la productividad, debido al uso inadecuado de fertilizantes químicos y pesticidas (Singh *et al.*, 2017).

Los microorganismos están distribuidos en diferentes hábitats, siendo uno de estos la filósfera, la cual representa el ambiente proporcionado por las partes aéreas de las plantas (hojas, tallos, brotes, flores y frutos) (Whipps *et al.*, 2008); las comunidades de bacterias presentes en la filósfera pueden utilizarse eficazmente como biofertilizantes y bioestimulantes (Wagi & Ahmed, 2017), por lo tanto es importante su estudio y caracterización.

Para Whipps *et al.* (2017), existen numerosos factores que definen la riqueza de la microbiota filósferica: como temperatura, humedad, disponibilidad de nutrientes y agua, edad de las hojas, especie vegetal y fisiología foliar, lo que nos da entender que evidentemente la diversidad microbiana de la filósfera en un banano cultivado en la Costa ecuatoriana no tendrá la misma riqueza que la población microbiológica en las hojas de un cultivo de papas proveniente de los Andes

Con la presente investigación se pretende brindar una alternativa basada en el empleo de microorganismos que pueden ser utilizados en diferentes campos en beneficio de la humanidad, tal es el caso de la agricultura siendo utilizado inoculante microbiano, mejorando así las propiedades físico-químicas del suelo, aumentando la producción y protección de los cultivos, de igual manera pueden ser utilizados en procesos de degradación de la materia orgánica.

El objetivo este estudio fue caracterizar microorganismos benéficos presentes en la filósfera de tres especies vegetales (*Coffea arabica*, *Mussa paradisiaca* y *Citrus limón*), procedente de tres regiones del Ecuador (Costa, Sierra y Amazonia).

Los objetivos específicos fueron:

Determinar las unidades formadoras de colonias de microorganismos benéficos presentes en la filósfera de limón, café y banano, empleando procesos microbiológicos.

Identificar los microorganismos benéficos presentes en la filósfera de limón, café y banano, a través de pruebas de laboratorio, resaltando así los microorganismos benéficos filosféricos más importantes.

## CAPÍTULO II

### 2. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 Microorganismos benéficos

##### 2.1.1 ¿Qué son los microorganismos benéficos?

No son más que un nutrido grupo de microorganismos destinados a mejorar las condiciones del suelo, beneficiando así la germinación, floración, fructificación y maduración vegetal, colaboran además en el crecimiento radicular de las plantas, actúan como agentes primarios para la conducción del ciclo de los nutrientes (N, P, K, y micronutrientes), propiciando finalmente la regulación dinámica de la materia orgánica, el secuestro del carbono y las emisiones de gases de efecto invernadero. Muchos de ellos son autótrofos (sintetizan su propio alimento) con capacidad de hacer fotosíntesis, otros tienen el potencial de obtener nutrientes de la atmósfera y de ponerlos a disposición de plantas y animales (Singh *et al.*, 2017).

##### 2.1.2 Diversidad de los microorganismos benéficos.

Se sabe que los microorganismos benéficos desempeñan un papel trascendental en el medio ambiente ya que interactúan con todas y cada una de las formas de vida que se anteponen en su existencia, para científicos tales como Villamar *et al.* (2004), es casi imposible precisar un número exacto de esta variedad de microbiología en vegetales ya que se puede encontrar desde *Micorrizas*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Trichoderma*, géneros considerados de amplio interés en el mundo agropecuario. En tanto que gracias a mecanismos como la solubilización del ácido fórmico, acético, glicólico, fumárico, etc., géneros emblemáticos tales como *Penicillium* aumentan hasta en un 36% la absorción de nutrientes en la filósfera vegetal (Souza *et al.*, 2015).

##### 2.1.3 Principales tipos de microorganismos benéficos.

Entre los principales grupos de microorganismos benéficos destacan:

###### 2.1.3.1 Bacterias fototrópicas.

La radiación ultra violeta proveniente de la luz solar es su principal fuente de energía a partir de la cual pueden sintetizar sustancias útiles entre las que sobresalen: ácidos nucleicos, aminoácidos y en general sustancias bio-activas que por sí solas desencadenan el crecimiento vegetativo. Generalmente las bacterias fototrópicas se valen de sustancias precursoras presentes en los sistemas radicales de los vegetales además de la emisión de ciertos gases tóxicos (hidrogeno sulfurado) para generar los metabolitos anteriormente expuestos, mismos que aumentan la cantidad de microorganismos benéficos en el tejido vegetal (Whipps *et al.*, 2008).

De acuerdo a Trabelsi *et al.* (2013), veremos que *Rhodospirillaceae* quizá es uno de los géneros más representativos de bacterias fotosintéticas en cuanto a morfología ya que puede verse reflejada claramente su membrana interna, su bacterioclorofila bien sea esta A o B como sus únicos pigmentos fotosintéticos y por supuesto su membrana interna.

### **2.1.3.2 Bacterias Ácido Lácticas.**

Las bacterias fototrópicas y levaduras generan sustancias precursoras de tipo azúcares y carbohidratos a partir del cual se valen las bacterias ácido lácticas para la fabricación de ácido láctico y otros ácidos orgánicos. La presencia de bacterias ácido lácticas es altamente beneficiosa por su condición en la supresión de patógenos, mecanismo de supresión mediado por la fermentación de ciertos biopolímeros ejemplo la celulosa (Nghah & Hanafiah, 2007).

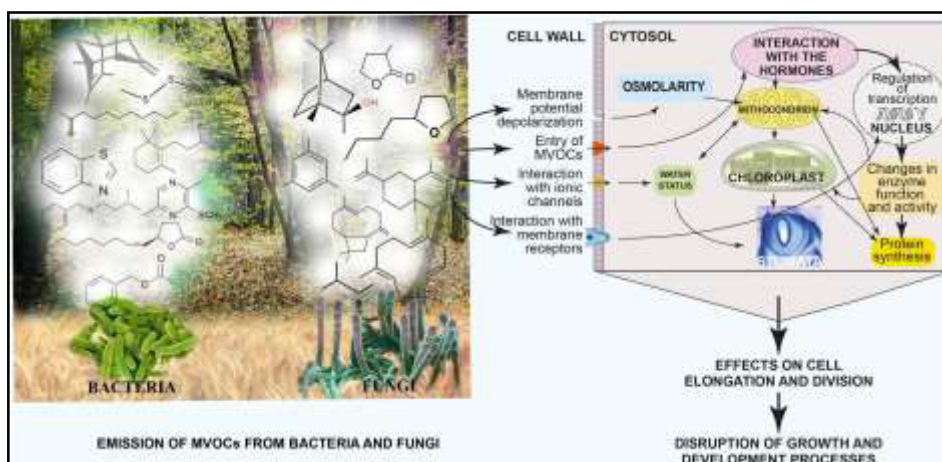
El género *Lactobacillus*, tienden a ser bacterias Gram positivas, anaerobias facultativas, anaerobias estrictas, con movilidad flagelada o sin movilidad, generalmente van a trabajar a un pH óptimo de 5.5 a 6 y a una temperatura que no supere los 38.5 °C de manera que les permita dar como producto final ácido láctico a través de la metabolización de carbohidratos. Además nos debe quedar muy claro que este género bacteriano promueve el desdoblamiento y la fermentación de lignina y celulosa, lo que provoca que los materiales celulares se descompongan con rapidez (Barakat, 2011).

### **2.1.3.3 Levaduras.**

*S. cerevisiae* es el género de levadura más famosa de la historia por su empleo global en la fabricación de cerveza y panes. Estas mismas levaduras como microorganismos benéficos en tejidos vegetales, logran acelerar su división celular gracias a potentes hormonas y enzimas que trabajan coactivamente con las bacterias ácido lácticas y los actinomicetos. La división celular propiciada por levaduras (Figura 1) tiende a ser mayormente marcada en las zonas radicales (Gupta & Babu, 2009).

*S. cerevisiae* son levaduras, con un retículo endoplasmático, un núcleo rodeado de membrana y algunos destacados orgánulos como vacuolas, mitocondrias y por supuesto el aparato de Golgi. Su reproducción es asexual y por gemación, pero existen casos por ejemplo el de *S. cerevisiae* donde se incluyen dos fases de reproducción sexual: una haploide y otra diploide. Los tipos celulares opuestos de orden sexual;  $\alpha$  y a que van a codificar un par de alelos heterocigotos conocidos como MAT $\alpha$  y MATa (Chaudhary *et al.*, 2017).

En caso de que haya los suficientes nutrientes y todas las condiciones adecuadas este conglomerado celular podrá reproducirse sin ningún problema por vías alternas como la gemación (Cuervo *et al.*, 2009).



**Figura 1:** Mecanismos de división celular en vegetales propiciados por levaduras.

**Fuente:** Singh *et al.* (2017)

## 2.2 Funciones de los microorganismos benéficos

Para Reisberg *et al.* (2012), las principales funciones de los microorganismos benéficos se pueden resumir en los siguientes puntos:

- **Eliminación de residuos tóxicos agrícolas en cultivos:** propiedad que se basa en la capacidad propia del metabolismo que tienen ciertos microorganismos de transformar moléculas orgánicas contaminantes en sustancias más pequeñas que resultan menos tóxicas y mucho menos contaminantes. Compuestos tales como derivados del petróleo; benceno, tolueno, acetona, pesticidas, herbicidas, éteres pueden ser fácilmente degradados por ciertas levaduras y hongos benéficos, en tanto que los metales pesados como el cadmio y el uranio no son degradables pero ciertas bacterias como las *Pseudomonas* se cree podrían concentrarlos para facilitar su posterior remoción (Yadav *et al.*, 2017).
- **Multiplican la disponibilidad de nutrimentos en el vegetal a través de mecanismos de reciclaje:** en base a lo enunciado por Souza *et al.* (2015), sabemos que sulfatos, molibdatos, hierro, manganeso, fosfatos, cobre y zinc son algunos de los nutrimentos que fácilmente pueden ser reciclados por el metabolismo microbiano. Iones hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ), hidrogeno ( $\text{H}^+$ ) y aluminio ( $\text{Al}^{3+}$ ) condicionan la solubilidad y disponibilidad de los nutrimentos

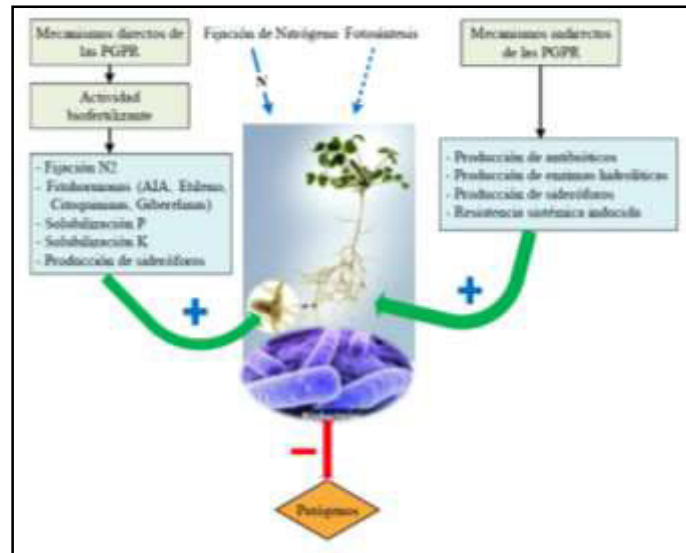
anteriormente reciclados en el suelo, que está directamente vinculado al pH óptimo en el que puede desarrollarse el microorganismo.

- **Facilitan la fijación del nitrógeno en su forma atmosférica:** gracias al complejo proteico nitrogenasa integrado por dos metaloproteínas: molidbdoferroproteína y la ferroproteína, las bacterias fijadoras del nitrógeno (organismos diazótrofos) catalizan la transformación en amoniaco del nitrógeno presente en el medio atmosférico. Una efectiva actividad de la nitrogenasa requiere un moderado gasto de ATP que a su vez será inhibido por ADP, es obligatoria la presencia de un filtro de oxígeno; la leghemoglobina que además debe equiparar la tensión de oxígeno presente en el nódulo radicular (Mazinani *et al.*, 2017b).
- **Descomposición de moléculas inorgánicas complejas a moléculas orgánicas simples, que serán fácilmente aprovechadas por el vegetal:** la descomposición de la materia orgánica es útil para los microorganismos por dos razones: como suministro de energía para el crecimiento de los mismos, y como fuente de carbono para la formación del nuevo material celular. El dióxido de carbono, metano, ácidos orgánicos, y alcoholes son productos de desecho liberados en la adquisición de energía. El rasgo esencial para los propios microorganismos es la captura de energía y carbono para la síntesis celular (Chaudhary *et al.*, 2017).
- **Síntesis de complejos polisacáridos cuyo único objetivo es potenciar la agregación edáfica:** según Reisberg *et al.* (2012) entre los complejos polisacáridos mayoritarios destacan la celulosa, el constituyente químico más abundante, que varía en concentración entre el 15 y el 60% del peso seco vegetal, hemicelulosa que generalmente alcanza del 10 al 30% del peso lignina, comúnmente es del 5 al 30% de la planta y finalmente la fracción soluble en agua, en la que se incluye azúcares simples como la glucosa, fructosa y galactosa.

### 2.2.1 Regulación del crecimiento vegetativo.

Función de crecimiento regulada principalmente por fitohormonas tales como citoquininas (CK), giberelinas, auxinas, ácido abscísico. Para Cervantes & Sánchez Moreno (1999), dichas fitohormonas son secretadas por rizobacterias, el cometido principal es elevar el crecimiento radicular, sobre todo de la raíz secundaria del vegetal, para el aumento en la proliferación de la radícula secundaria que trae consigo mayor captación hídrica y nutritiva.





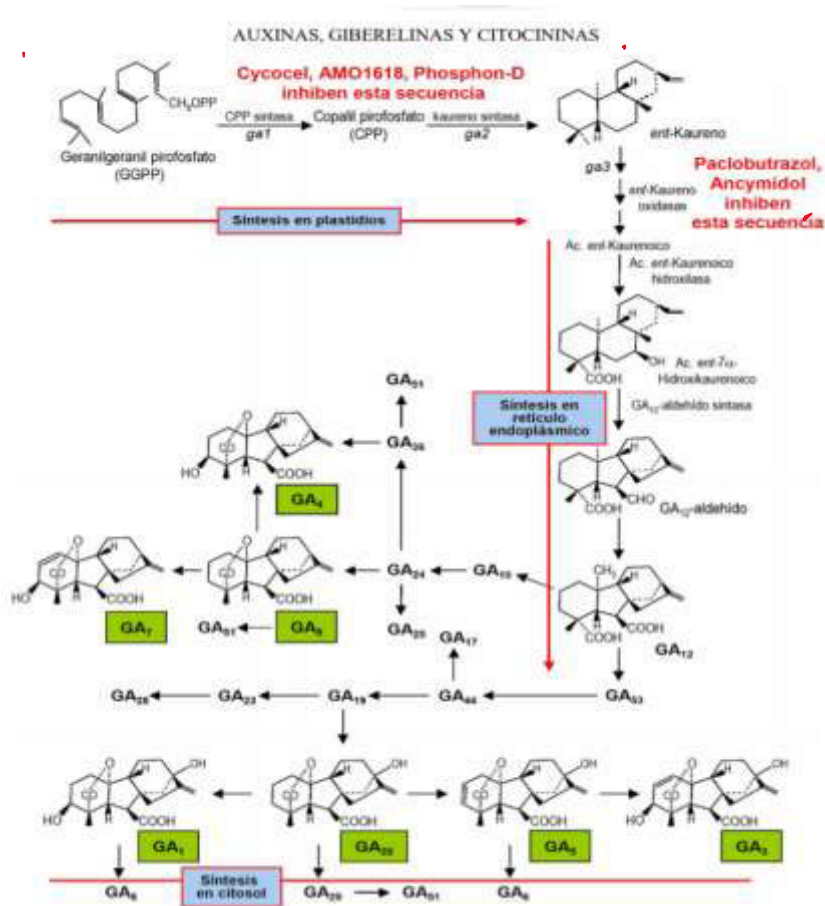
**Figura 4:** Mecanismo de fijación del nitrógeno atmosférico mediado por rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR).

**Fuente:** Alvarez (2018)

La enzima nitrogenasa es la enzima central que permite la fijación del nitrógeno atmosférico a través de organismos diazótrofos, esta enzima está compuesta básicamente de dos componentes metaloenzimáticos: a) un cofactor metálico compuesto mayoritariamente de dinitrogenasa y b) un dímero doble hidrolizable que permite un doble enlace al magnesio ATP estamos hablando de la dinitrogenasa reductasa.

### 2.2.3 Síntesis y promoción de reguladores del crecimiento vegetativo.

Sustancias supremamente útiles en la agricultura generalmente sintetizados como metabolitos secundarios que ayudan a acelerar el crecimiento de los vegetales, frecuentemente son promovidos por la microbiología que habita la rizósfera vegetal (Cuervo *et al.*, 2009). Entre los promotores del crecimiento bacteriano más destacados se hallan el ácido giberálico, el etileno, las auxinas y las giberelinas (figura 5).



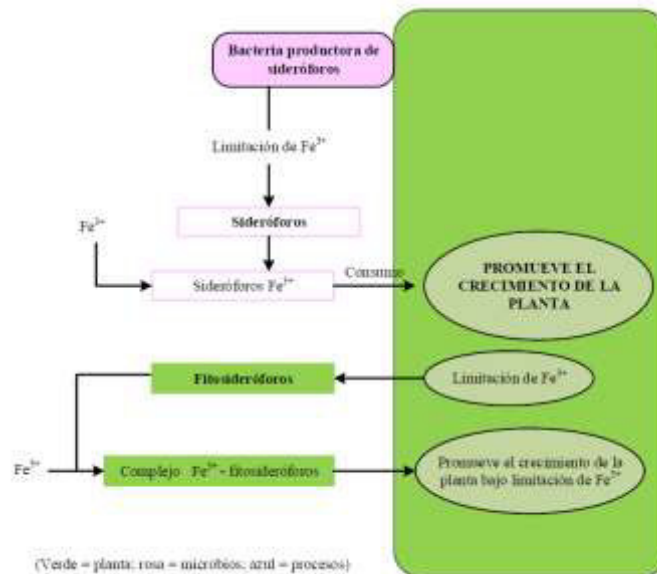
**Figura 5:** Ruta de síntesis de diversas hormonas vegetales responsables de acelerar el crecimiento vegetativo

**Fuente:** Jordán & Casaretto (2006)

Para (Arias, 2010) las bacterias que pueblan las raíces llamadas también rizobacterias son capaces de liberar hasta un 90% del total de las auxinas que serán las responsables del crecimiento en el sistema radicular vegetal; dichos efectos son notables ya que se basan en un aumento en la ramificación de la estructura radicular del vegetal lo cual permite incrementar la superficie de contacto con el suelo, viéndose visiblemente mejorada su nutrición (Zhou *et al.*, 2009).

### 2.2.4 Producción de sideróforos.

Bacillus, Serratia, Pseudomonas, Rhizobium, Azobacter son algunas de las rizobacterias que promueven un acelerado crecimiento del tejido vegetal empleando como única fuente de hierro, nada más y nada menos que ferrosidóforos radiomarcados (Figura 6); la característica central de estas bacterias es su crecimiento a bajas concentraciones de  $Fe^{3+}$  (Souza *et al.*, 2015).



**Figura 6:** Ruta de promoción del crecimiento vegetativo mediada por complejos ferrosidóforos radiomarcados en microorganismos.

**Fuente:** Alvarez (2018)

### 2.2.5 Importancia física de los microorganismos benéficos.

- Transportan fragmentos orgánicos y minerales, mezclándolos, facilitando la formación del complejo arcillo-húmico (García-Fraile *et al.*, 2015)
- Los microorganismos del suelo, especialmente los hongos, favorecen una buena estructura pues estabilizan los agregados envolviéndolos con sus redes de micelios y evitando que sean arrastrados por el agua de lluvia u otros agentes responsables de la erosión (Yadav *et al.*, 2017).

## 2.3 Medios de cultivos para microorganismos benéficos

### 2.3.1 Medios de cultivos para bacterias fotosintéticas.

Las bacterias fotosintéticas necesitan de un medio enriquecido ( $\text{CO}_2 + \text{H}_2$ ) para su detección en tanto que para su aislamiento un agar semisólido con bajo contenido de ( $\text{H}_2\text{S}$ ) será suficiente. Esto debido al exceso de pigmentos carotenoides y otras fitohormonas promotoras del crecimiento vegetativo que sirven a este género como un protector natural de la fotooxidación sirviendo al mismo tiempo como accesorio para la fotosíntesis, en base a los apuntes de (Fu & Wang, 2011).

### **2.3.2 Medios de cultivos para levaduras.**

Hay que tener en cuenta que se requiere una fuente de carbono orgánico y de nitrógeno continua para el cultivo adecuado de levaduras, además que la presión es un factor crucial donde a presiones superiores de 1 atm de oxígeno y un pH alcalino, se inhibiría el crecimiento de dichos organismos, en base a las referencias proporcionadas por (Madigan *et al.*, 2004). El extracto de levaduras es el medio perfecto para la identificación y aislamiento de los diferentes géneros de mohos y levaduras sumado a los agares y extractos con base de malta (Yadav *et al.*, 2017).

Para Trabelsi *et al.* (2013), el agar de Sabouraud es un medio no diferencial que protege el desarrollo de las levaduras de todo tipo de crecimiento bacteriano y con un pH inferior a 6. Existe un problema vinculado al uso de este medio, dado su poca selectividad un gran número de colonias de levaduras patógenas podrían crecer en medio de levaduras benéficas como *S. cerevisiae* sin que pueda haber mayor distinción entre ellas, el crecimiento bacteriano puede ser fácilmente frenado con el uso de antibióticos como: estreptomina y penicilina (Cortés, 2004).

### **2.3.3 Medios de cultivos para bacterias ácido lácticas.**

Según (Trabelsi *et al.*, 2013), vitaminas, carbohidratos hidrosolubles, aminoácidos peptídicos, vitaminas, sales, ácidos grasos de cadenas insaturadas son solo algunos de los requerimientos necesarios por las bacterias ácido lácticas; de tal suerte que medios importantes como el Rogosa Agar (LBS) y el Man Rogosa Sharpe (MRS) posibiliten el crecimiento de especies tan exóticas entre las que se incluyen *Lactobacillus casei* (Wagi & Ahmed, 2017).

El agar M.R.S es un medio de cultivo sumamente enriquecido en cofactores como acetato, manganeso, magnesio y monoleato de sorbitán que ayudan a favorecer el correcto desarrollo de las bacterias del ácido láctico (V. M. Singh *et al.*, 2016). De acuerdo a (Mazinani *et al.*, 2017b) se necesita una fuente constante de carbono, nitrógeno; misma que es suministrada por peptona y glucosa. Si se desea inhibir el crecimiento de bacterias Gram negativas el agente inhibitorio por excelencia es el citrato de amonio acorde a la referencia de Trabelsi *et al.* (2013). Hay que tener muy presente que en el caso de caracterización fenotípica de bacterias productoras del ácido láctico este medio tendrá que ser preparado a partir de glucosa al 2% para posteriores pruebas de gas que no deberán superar las 48 horas a temperaturas de 38 °C (Aquiahuatl *et al.*, 2012).

## **2.4 Aislamiento y cultivo de microorganismos benéficos**

### **2.4.1 Aislamiento de microorganismos benéficos.**

Para Arias (2010), la siembra en profundidad (agitación de agar) y la siembra por estría en superficie (placas de Petri) son dos de los métodos más usuales para el aislamiento de cultivos en estado puro (axénicos) de microorganismos benéficos. De acuerdo a Reisberg *et al.* (2012) la siembra en profundidad aprovecha el desarrollo de colonias sumergidas en lo profundo de un tubo con agar caso contrario a lo que sucede en la siembra de superficie con placas de Petri.

## **2.5 Técnicas de siembra de bacterias y levaduras.**

El uso de medios de cultivo selectivos y/o diferenciales es decir aquellos medios enriquecidos con: indicadores, colorantes incluso sangre, mismos que facilitan la caracterización e identificación bacteriana, la técnica por defecto a emplear será de estría cruzada simplificada con la consecuente obtención de bacterias dominantes (Tejada Tovar *et al.*, 2014) .

Hay que tener muy en claro que los métodos de siembra son diversos y responden a la necesidad de la obtención de información básica o aplicada del microorganismo en estudio. Entre las técnicas más comunes se tienen: extensión de diluciones de un cultivo en superficie de medios en caja de Petri, por estría en caja de Petri y tubos con medios solidificados inclinado (Tchobanoglous *et al.*, 2003).

### **2.5.1 Técnica simplificada de estría cruzada.**

En base a lo descrito por Aquiahuatl *et al.* (2012), se describe el procedimiento siguiente:

- Se sugiere flamear el asa bacteriológica hasta el rojo vivo.
- Se enfría el asa.
- Obligatoriamente se divide las cajas Petri en cuatro cuadrantes por la parte de atrás.
- Como su nombre lo sugiere la inoculación ocurre a manera de estrías, en un total de 5 pero solo en el primer cuadrante. Nuevamente se flamea el asa bacteriológica y la placa se la gira un cuarto.
- La incubación deberá durar un máximo de 48 horas a una temperatura que no supere los 35 °C.

## 2.6 Siembra de hongos filamentosos

De igual manera Aquiahuatl *et al.* (2012) enlista los pasos fundamentales a seguir en la siembra de hongos filamentosos:

- El primer paso consiste en la separación del micelio de los hongos gracias a un asa de siembra bacteriológica.
- Una vez que se ha producido la separación del micelio gracias a una técnica de inoculación por piquete.
- Se incuban las placas Petri por periodos que no superen los 5 días y a temperaturas máximas de 30 °C.

## 2.7 Caracterización de microorganismos

### 2.7.1 Métodos basados en criterios morfológicos.

Mientras menor sea el tamaño y más sencillo sea un microorganismo se dificulta su clasificación por la amplia gama de criterios bioquímicos, serológicos, fisiológicos. Esto es lo que diferencia a un microorganismo de un organismo superior, sus rasgos anatómicos que lo hacen fácilmente clasificables. Por otro lado para Trabelsi *et al.* (2013), una herramienta clave en la identificación bacteriana basada en criterios morfológicos es sin duda las relaciones filogenéticas (Tabla 1).

**Tabla 1:** Tabla resumen con las principales propiedades diferenciadoras entre bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas.

Propiedades de las bacterias	Gram Positivas	Gram Negativas
Tinción de la pared	20 – 80 nm	10 nm
Número de capas en la pared	1	2
Contenidos de peptidoglicanos	45- 55%	12 – 18%
Ácido tectóico en la pared	+	-
Contenido de lípidos y lipoproteínas	0 – 3%	58%
Contenido de proteínas	0%	9%
Lipopolisacaridos	0	13%
Digestibilidad mediada por lisozimas	Si	A penas

**Fuente:** Mazinani *et al.* (2017a).

### 2.7.2 Métodos basados en tinción diferencial.

La tinción diferencial encabeza el mayor criterio morfológico al catalogar a las bacterias como Gram positiva o Gram negativa. Las micobacterias se engloban dentro de una categoría de tinción diferencial especial denominada ácido resistentes (García-Fraile *et al.*, 2015).

Para García-Fraile *et al.* (2015) la tinción de Gram es un método basado en la precipitación del complejo yodo-cristal violeta al interior de la matriz celular que en el caso de las bacterias Gram negativas puede extraerse fácilmente con alcohol etílico, pero su remoción se ve imposibilitada en las bacterias Gram positivas.

## **2.8 Ubicación de los microorganismos benéficos en los vegetales**

Para Marcel (2007) el microbioma vegetal está condicionado por una serie de factores bióticos y abióticos que encajan perfectamente dentro del nicho ecológico del que forman parte. Al ser un hecho extremadamente inusual que una comunidad microbiana viva aislada siempre se asociaran con otras poblaciones formando así comunidades microbianas (Whipps *et al.*, 2008) . La planta es capaz de proporcionar diferentes hábitats donde se pueden albergar diversos tipos de microorganismos, dentro de estos hábitats tenemos:

- Rizosfera
- Filósfera
- Endosfera

### **2.8.1 Filósfera.**

Los microorganismos están distribuidos en diferentes hábitats, siendo uno de estos la filósfera, la cual representa el ambiente proporcionado por las partes aéreas de las plantas como las hojas, tallos, brotes, flores y frutos (Whipps *et al.*, 2008). Hongos filamentosos y levaduras habitan las partes aéreas del vegetal pese a que las bacterias son el grupo microbiano de presencia predominante en la filósfera.

Los factores que limitan el crecimiento y la supervivencia microbiana en la filósfera son diversos y generalmente se dividen en físicos y químicos, por ejemplo la disponibilidad de carbono asimilable es crucial en las poblaciones de microorganismos epífitos. En lo que se refiere a la interacción de organismos endófitos y sus hospederos los factores se hallan supeditados a condiciones ambientales, fenológicas e incluso genéticas determinando así simbiosis entre las diferentes comunidades microbianas que pueblan las partes aéreas del vegetal, tal y como ha sido enunciado por (Reisberg *et al.*, 2012).

### **2.8.2 Rizósfera.**

De acuerdo a Arias (2010), la mayor concentración de microorganismos se encuentra en la zona cercana a las raíces en lo que se conoce como en nombre de rizósfera. Las raíces corresponden a una biomasa de 5 a 6 Tm por hectárea en un campo cultivado. Para Sing *et al.* (2017) existe una marcada división de los microbiomas

en la endosfera (microbios que viven dentro de las raíces) y la rizósfera (microbios que viven en el suelo que rodea las raíces).

## **2.9 Supervivencia de los microorganismos en la filósfera**

Las hojas en el 99% de los vegetales fanerógamos, están expuestas al polvo y a las corrientes de aire que dan como resultado los establecimientos de flora típica en su superficie ayudados por las cutículas, ceras y apéndices, que ayudan en el anclaje de microorganismos (Chaudhary *et al.*, 2017). Los microbios filoféricos pueden sobrevivir en las hojas dependiendo de la extensión de las influencias del material en la difusión de la hoja o en los exudados (García-Fraile *et al.*, 2015).

## **2.10 Microorganismos presentes en la filósfera vegetal**

Para Yadav *et al.* 2017 muchos microorganismos tales como *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Brevibacterium*, *Burkholderia*, *Diplococcus*, *Flexibacterium*, *Methylobacterium*, *Microbiospora*, *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Nocardioides*, *Pantoea*, *Penicillium*, *Planomonospora*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Streptomyces*, *Thermomonospora* y *Xanthomonas* se han reportado en la filósfera de diferentes plantas de cultivo .

## **2.11 Condiciones necesarias para el desarrollo de microorganismos benéficos en la filósfera**

Todos los microorganismos benéficos que habitan la filósfera vegetal, al igual que el resto de los seres vivos, necesitan de un conjunto de condiciones que les permita crecer/vivir en un determinado medio ambiente. Estos factores son, obviamente, diferentes para cada microorganismo. De forma general, las bacterias requieren ambientes diferentes que las levaduras y las levaduras precisan entornos distintos que los hongos y dentro de cada uno de estos grupos existen más diferencias dependiendo de cada especie (Wagi & Ahmed, 2017).

### **2.11.1 pH.**

El pH varía con la cantidad de compuestos ácidos y básicos existentes en el medio donde se desarrolla la población microbiana. Cuanto mayor sea la cantidad de sustancias ácidas presentes menor será el pH y mayormente ácidofilas las poblaciones microbianas que conviven en dicho entorno, tal y como lo asevera Souza *et al.* (2015).

### **2.11.2 Oxígeno disponible.**

La presencia de oxígeno en el medio ambiente vegetal tiene también influencia en el tipo de microorganismos que pueden crecer en un determinado alimento y en la velocidad a la que se multiplicarán (Wagi & Ahmed, 2017). Los organismos que habitan

en la filósfera experimentan aumento en su saturación de oxígeno frente a la microbiota de la rizósfera (Yadav *et al.*, 2017).

## **2.12 Regiones climáticas del Ecuador**

Según Villamar *et al.* (2004), en Ecuador existen hasta nueve tipos de climas, los cuales se hallan distribuidos en función de su altura y la época del año que son:

- I. Zona climática tropical estacional monzónico.
- II. Zona climática tropical – seca.
- III. Zona climática tropical húmeda.
- IV. Zona tropical de los glaciares.
- V. Zona tropical húmeda de las regiones bajas ecuatorianas.
- VI. Zona tropical semi – árida.
- VII. Zona climática mesotérmica húmeda.
- VIII. Zona climática montana temporal.
- IX. Zona montana del trópico frío.

Se exponen las tres zonas climáticas consideradas al interior de esta investigación:

### **2.12.1 Zona climática tropical húmeda.**

Se caracteriza por precipitaciones anuales elevadas que superan los 3.000 mm llegando hasta 6.000 mm en algunos lugares. La temperatura es de 25 °C que se mantienen casi durante todo el año. La vegetación es siempre verde, la gran cantidad de precipitaciones permiten el crecimiento de selvas tropicales exuberantes características de la Amazonía, dentro de esta Región puede incluirse la provincia de Morona Santiago (Barsky ,1988).

### **2.12.2 Zona climática tropical de monzón.**

La provincia del Oro se halla incluida en esta categoría ya que generalmente abarca todo el golfo de Guayaquil. Las precipitaciones en esta Región son de 1.000 y 2.000 mm que ocurren principalmente entre diciembre y mayo. La vegetación de esta zona es una selva densa con una temperatura media de 23 a 27 °C (Terborgh,1992).

### **2.12.3 Zona climática mesotérmica húmeda.**

Es el clima que más se encuentra en los valles de la Sierra. La temperatura media oscila entre 12 y 20 °C. Hoy en día se asientan sobre estos valles las principales ciudades del país como Cuenca, así como lo publica Villamar *et al.* (2004) en sus

múltiples investigaciones sobre las diferentes regiones naturales del territorio Ecuatoriano.

## 2.13 Especies vegetales en estudio

Para la presente investigación se tomaron en cuenta las especies vegetales de Café (*Coffea arabica*), banano (*Musa paradisiaca*) y limón (*citrus limon*).

### 2.13.1 Café (*Coffea arabica*).

- **Clasificación taxonómica del café.**

Gotteland (2007) nos presenta a continuación la clasificación taxonómica resumida del café:

Taxonomía del Café ( <i>Coffea arabica</i> )	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Gentianales
Familia	Rubiaceae
Subfamilia	Ixoroideae
Tribu	Coffeae
Genero	Coffea
Especie	Coffea arabica

- **Condiciones óptimas para el cultivo de café.**

En base a las referencias presentadas por Gotteland (2007) para cultivar café de excelente calidad se necesita contar con temperaturas que rondan entre los 19 y 21,5 grados centígrados, a temperaturas que sobrepasen de los 21,5 grados centígrados se estimula cosechas más tempranas, así como ciclos de vidas menos productivos del vegetal y lo más grave la propensión a ataques de la roya del café. Es indispensable por lo menos 120 mm de precipitaciones mensuales en *Coffea arabica*, se ha demostrado que la sequia excesiva puede llegar a incrementar el ataque de plagas como el minador de café y la misma broca. En cuanto al pH que el suelo debe manejar para lograr un rendimiento excelente de más de 800 a 1000 kg anuales por hectáreas, este no debe de sobrepasar una acidez de 5 a 5,5 y contar con una excelente fertilidad sobre todo en los macronutrientes (N, P, K) (Gotteland, 2007).

### 2.13.2 Banano (*Musa paradisiaca*).

- **Clasificación taxonómica de banano.**

Castro (2015) se permite hacer una breve clasificación taxonómica del banano o conocida por su nombre científico como *Musa paradisiaca*.

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Liliopsida
<b>Orden</b>	Zingiberales
<b>Familia</b>	Musaceae
<b>Genero</b>	Musaceae
<b>Especie</b>	<i>Musa paradisiaca</i>

- **Condiciones óptimas para el cultivo de banano.**

En el banano se necesita una condición especial llamada latitud dado que a latitudes de 30° la productividad se ve reflejada en su máxima expresión, pese a que la mayoría de cultivos de bananos se hallan a alturas comprendidas entre los 400 y 600 m.s.n.m la altura máxima a la que se cultive el banano no podrá sobrepasar los 2000 m.s.n.m, también requiere temperaturas óptimas de crecimiento de 20° a 30° (Capa Benítez, Alaña Castillo, & Benítez Narváez, 2016).

### 2.13.3 Limón (*Citrus limon*).

- **Clasificación taxonómica de banano.**

Villanueva (2006) presenta la clasificación taxonómica del limon *Citrus limon* resumida de la siguiente forma:

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Zingiberales
<b>Familia</b>	Rutaceae
<b>Genero</b>	Citrus
<b>Especie</b>	<i>Citrus x limon</i>

- **Condiciones óptimas para el cultivo del limon.**

El *Citrus limon* fácilmente puede crecer a temperaturas comprendidas entre los 10 a 13 grados centígrados con un exceso de humedad relativa que fácilmente rebasa del 90 %; lo que los hace poco resistentes a heladas, necesitan de suelos calizos y poco permeables. Hay que tener en cuenta que el limon no puede tolerar la salinidad por lo que su sistema radicular fácilmente podría verse asfixiado, aireación del suelo debe permitir el paso del agua garantizando un adecuado intercambio catiónico (Villanueva, 2007).

## CAPÍTULO III

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Zona de estudio

La investigación se desarrolló en las tres regiones naturales del Ecuador continental (Costa, Sierra y Amazonía), concretamente en las provincias de El Oro, Azuay y Morona Santiago, Cantones de Machala, Cuenca y Limón Indanza respectivamente

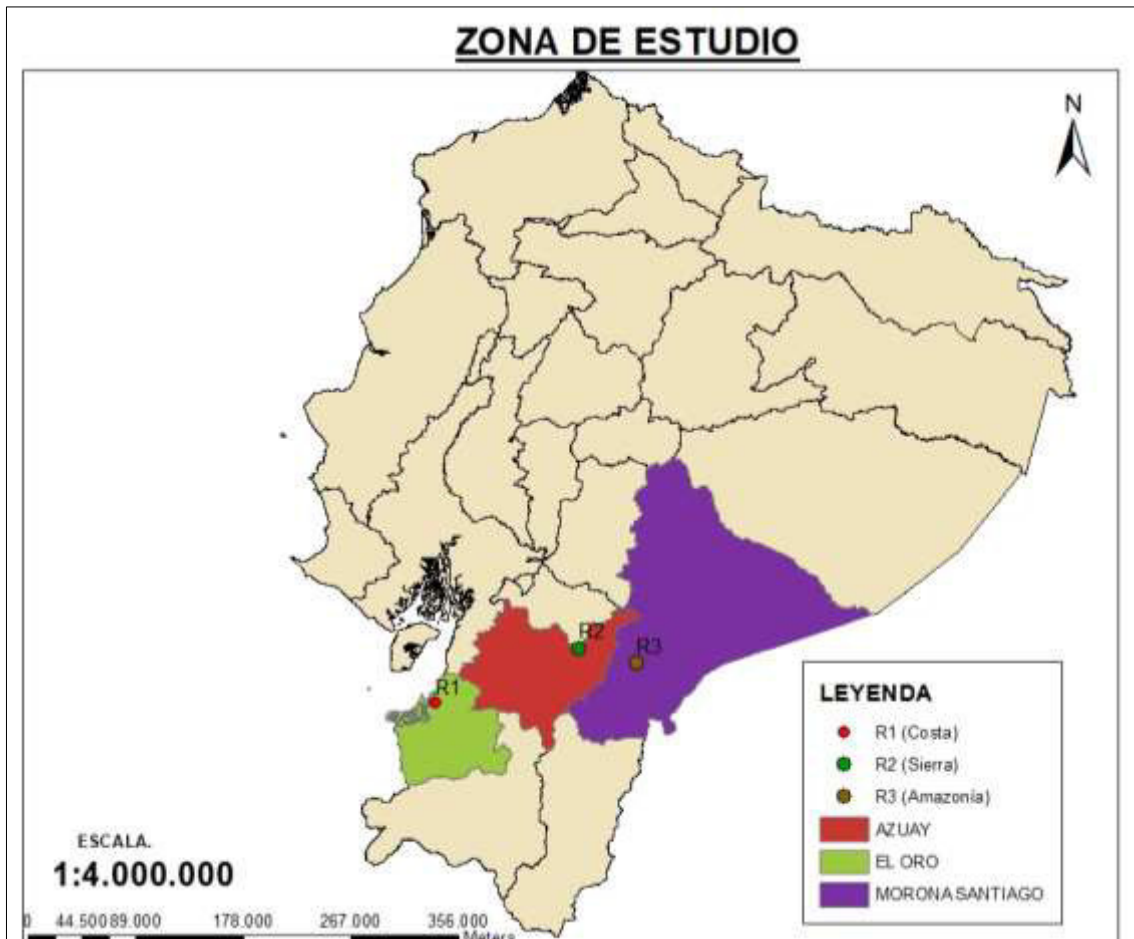


Figura 7: Zona de estudio.

#### 3.2 Recolección de muestras vegetales

Se seleccionaron tres diferentes tipos de plantas: café (Figura 8), banano (Figura 9) y limón (Figura 10), de las cuales se recolectaron muestras únicamente de sus hojas.



**Figura 8:** M1: Planta de banano (*Musa paradisiaca*)



**Figura 9:** M2: Planta de café (*Coffea arabica*)



**Figura 10:** M3: Planta de limón (*Citrus limon*)

En la provincia del Oro (Región Costa) el café, banano y limón fueron recolectadas en el cantón Machala, específicamente de la parroquia La Providencia (Figura 11).

Se tomó en cuenta la altura en la que se localizó cada una de estas, el café a 13 ms.n.m., el limón con 11 ms.n.m. y finalmente el banano que no sobrepasó los 10 ms.n.m..



**Figura 11:** Mapa ubicación de muestras recolectadas en la Región Costa (Cantón Machala)

En el caso de la Región Sierra es decir la provincia del Azuay se recolectaron las muestras de café, banano y limón en el sector Chocarsí de la parroquia Nulti perteneciente al cantón Cuenca (Figura 12), todas las plantas se situaron en la misma área geográfica en la cual la diferencia de alturas no fue significativa, localizándose la

planta de café a 2.489 ms.n.m., el banano a 2.482 ms.n.m. y finalmente la muestra de limón a 2.487 ms.n.m.



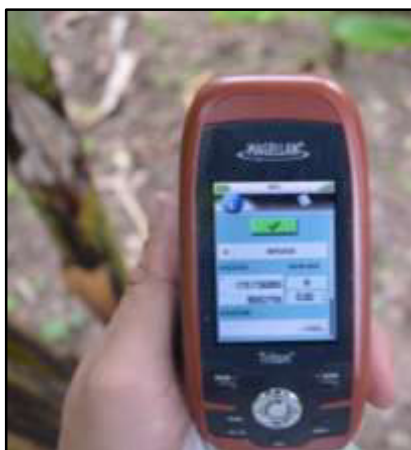
**Figura 12:** Mapa ubicación de muestras recolectadas en la Región Sierra (Cantón Cuenca).

En la Región Amazónica las muestras fueron recolectadas de la provincia de Morona Santiago. Las muestras del café y banano se tomaron en el sector San Antonio Chico perteneciente al cantón Limón Indanza a 1.127 ms.n.m. y 1.131 ms.n.m. respectivamente; en cuanto se refiere a la muestra de limón esta fue tomada dentro de la cabecera cantonal a 961 metros sobre el nivel del mar (Figura 13).



**Figura 13:** Mapa ubicación de muestras recolectadas en la Región Amazónica (Cantón Limón Indanza)

Con la ayuda de un GPS manual marca MAGELLAM modelo TRITON se establecieron las coordenadas geográficas y la altura a la que se ubicó cada vegetal recolectado (Figura 14). Con la debida asepsia del caso, las hojas fueron desprendidas de cada planta para ser envueltas en papel periódico y finalmente conservadas en bolsas plásticas con cierre, debidamente identificadas (Figura 15).



**Figura 14:** Lectura de coordenadas geográficas



**Figura 15:** Recolección de muestras

Todas estas muestras fueron transportadas al laboratorio de la Unidad Académica de Ingeniería, Industrias y Construcción de la Universidad Católica de Cuenca para proceder a la preparación del cultivo madre y su posterior activación.

Para la correcta diferenciación de las muestras recolectadas se procedió a identificar cada una de las muestras con un código que representa la Región natural en donde se recolectó la muestra y el tipo de planta a la que pertenece, tal como se puede observar en la Tabla 2.

**Tabla 2:** Codificación de las muestras vegetales de acuerdo a la Región natural de su procedencia.

Región Natural	Muestra	Nombre Común	Nombre científico
R1(Costa)	M1	Café	<i>Coffea arabica</i>
	M2	Banano	<i>Musa paradisiaca</i>
	M3	Limón	<i>Citrus limon</i>
R2 (Sierra)	M1	Café	<i>Coffea arabica</i>
	M2	Banano	<i>Musa paradisiaca</i>
	M3	Limón	<i>Citrus limon</i>
R3 (Amazonía)	M1	Café	<i>Coffea arabica</i>
	M2	Banano	<i>Musa paradisiaca</i>
	M3	Limón	<i>Citrus limon</i>

### 3.3 Preparación del cultivo madre

Posterior a la recolección, codificación e identificación de las diversas muestras vegetales en base a su Región de procedencia y especie vegetal, las mismas fueron trituradas en pequeños fragmentos, pesadas y mezcladas con agua, sal, melaza e hígado de res de acuerdo a las proporciones utilizadas por Alvarez (2018), en su que su estudio "Incidencia de la inoculación de microorganismos benéficos en el cultivo de fresa (*Fragaria* sp.)", especificadas en la siguiente tabla:

**Tabla 3:** Ingredientes y proporciones necesarios para la preparación de la solución madre de microorganismos benéficos.

Descripción	Cantidad
Muestra vegetal	50 g
Agua	50 cc
Hígado de res	10 g
Sal	5 g
Melaza	20 cc

Los datos anteriormente citados, ahora traducidos a porcentajes y una vez que se procedió a preparar la solución madre, se constató que la muestra vegetal tuvo una relación directa con la cantidad de agua lo que representó el peso total de la solución, a lo que se adiciono un 5% de sal, un 10% de hígado y un 20% de melaza (Figura 16).



**Figura 16:** Bolsas plásticas con el preparado de sal, hígado y las muestras vegetales.



**Figura 17:** Solución madre preparada

Una vez preparada la solución madre de cada una de las muestras (Figura 17) se conservaron a temperatura ambiente y evitando la luz solar, lo cual fue clave para la adecuada conservación de la muestra, con el pasar de los días dicha solución madre desprendió un olor característico de tonalidad agridulce, evidenciando la aparición de pequeños fragmentos de color blanco sobre la solución lo que demostró el correcto avance del proceso.

Durante estos ocho días se procedió a la determinación constante de pH y conductividad eléctrica en cada una de las muestras, con un potenciómetro/ conductímetro marca HACH modelo HQ30E, procurando evitar el contacto y/o roce entre las diferentes soluciones madres.

### 3.4 Producción de microorganismos benéficos

En base a las especificaciones de la (Tabla 4) se preparó un medio de cultivo adecuado para la producción de microorganismos benéficos, el cual se preparó con una mezcla de sal, agua libre de cloro, hígado de res y melaza (Figura 18), todo de acuerdo a la metodología utilizada por Alvarez (2018).

**Tabla 4:** Ingredientes y proporciones necesarias para la producción de microorganismos benéficos

Descripción	Cantidad
Agua	400 ml
Hígado de res	40 g
Sal	4 g
Melaza	40 ml

Una vez preparado el medio de cultivo se procedió a la esterilización del mismo para lo cual fue sometido al auto clave durante 15 minutos a una temperatura de 121 °C a una atmosfera de presión (Figura 19). Luego del auto clavado se esperó un tiempo de 2 horas hasta que se enfríe el medio de cultivo y ser trasvasado a botellas plásticas de 500 ml debidamente esterilizadas para proseguir con la adición 40 ml de cada solución madre en cada una de las botellas (Figura 20), finalmente se dispusieron en un lugar a condiciones ambientales normales sin exposición directa a la radiación solar.



**Figura 18:** Preparación del medio de cultivo.



**Figura 19:** Autoclavado del medio de cultivo



**Figura 20:** Envases con medio de cultivo.

Después de la fase conocida como la activación microbiana se procedió con un registro exhaustivo del pH por un tiempo de 10 días, donde la presencia de cepas blanquecinas en su capa superior es indicativa de la presencia de microorganismos benéficos.

### **3.5 Caracterización de microorganismos benéficos**

Una vez concluidos los 10 días de registro de pH para el medio de cultivo anteriormente expuesto se procedió a caracterizar la microbiología presentes en las hojas de los vegetales recolectados en las tres regiones naturales del Ecuador continental, por lo que la totalidad de las muestras procesadas fueron enviadas al laboratorio PlantSphereLabs (PSL) en la ciudad de Quito para dicho cometido.

## CAPÍTULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 4.1 Evaluación de pH

##### 4.1.1 Determinación del pH en el medio de cultivo madre

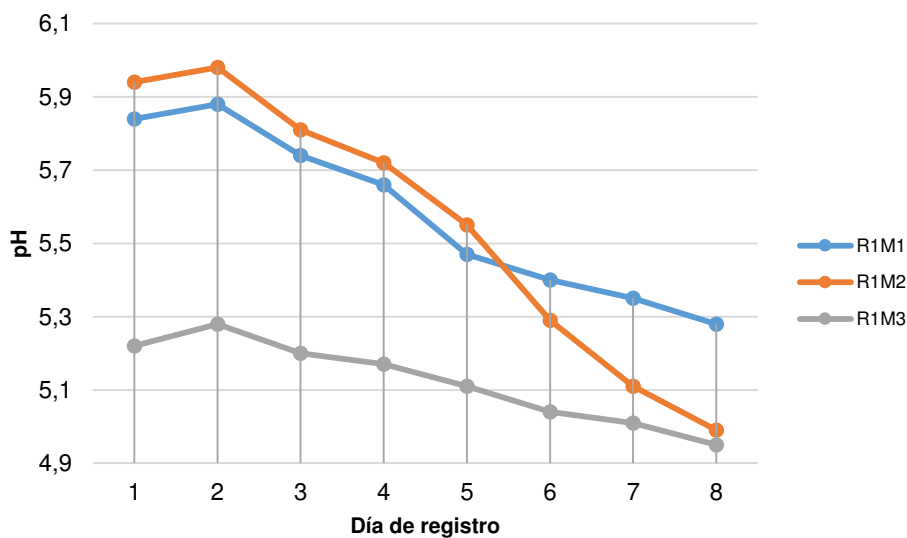
##### 4.1.1.1 Evaluación del pH en el medio de cultivo madre de las muestras provenientes de la Región Costa.

Durante los ocho días que se realizó las lecturas consecutivas de pH en el cultivo madre con todas las muestras vegetales procedentes de la Región Costa (provincia del Oro), fue evidente (Tabla 5) un descenso gradual y progresivo de este parámetro, dado que por ejemplo en el primer día en la muestra de banano R1M2 su potencial de hidrogeno fue de 5,94 cuando para el octavo día se redujo a 4,99.

**Tabla 5:** Valores de pH registrados en muestras de la Región Costa

Muestra	Día							
	1	2	3	4	5	6	7	8
R1M1	5,84	5,88	5,74	5,66	5,47	5,40	5,35	5,28
R1M2	5,94	5,98	5,81	5,72	5,55	5,29	5,11	4,99
R1M3	5,22	5,28	5,20	5,17	5,11	5,04	5,01	4,95

En la Figura 21, hasta el octavo día se observa uniformidad en el descenso de pH de todas las muestras. Las muestras de limón R1M3 y café R1M1 registraron el mayor descenso de su pH en comparación con la muestra de cultivo madre elaborada con banano R1M2.



**Figura 21:** Variación de pH en los medios de cultivo madre de las muestras procedentes de la Región Costa.

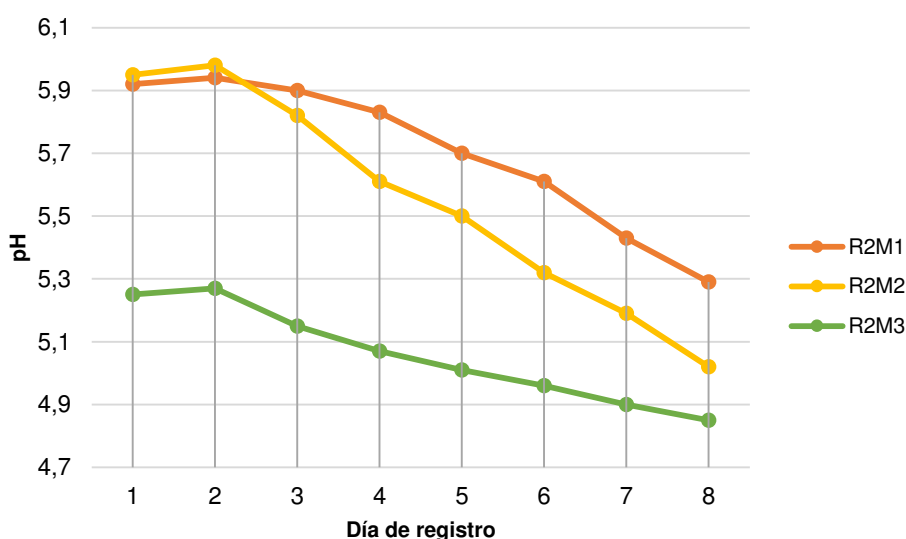
#### 4.1.1.2 Evaluación del pH en el medio de cultivo madre de las muestras provenientes de la Región Sierra.

Debemos recalcar que en ningún día de registro de pH los valores se igualaron entre ellos es decir alcanzaron cantidades semejantes entre muestras tal y como sucede en el estudio de Alvarez *et al.* (2018). En la Tabla 6, se aprecia que el primer día de evaluaciones el registro más alto corresponde al banano R2M2 con 5,95 en tanto que el pH más bajo fue para el limón con 5,25. Si nos trasladamos al octavo día de evaluación los valores de pH se hallan considerablemente descendidos, nótese que el pH del limón R2M3 está en 4,85 (siendo la lectura más baja de este día experimental), contrastando con el registro del café en 5,29 que resultó ser el promedio más alto con el que se cierra esta parte del experimento para la Región interandina.

**Tabla 6:** Valores de pH registrados en muestras de la Región Sierra

Muestra	Día							
	1	2	3	4	5	6	7	8
R2M1	5,92	5,94	5,90	5,83	5,70	5,61	5,43	5,29
R2M2	5,95	5,98	5,82	5,61	5,50	5,32	5,19	5,02
R2M3	5,25	5,27	5,15	5,07	5,01	4,96	4,90	4,85

En la Figura 22, se puede apreciar que en todas las muestras el pH en el segundo día se elevó, no obstante desde el tercer día empezó a descender gradualmente en todas las muestras hasta el octavo día de registro.



**Figura 22:** Variación de pH en los medios de cultivo madre de las muestras procedentes de la Región Sierra

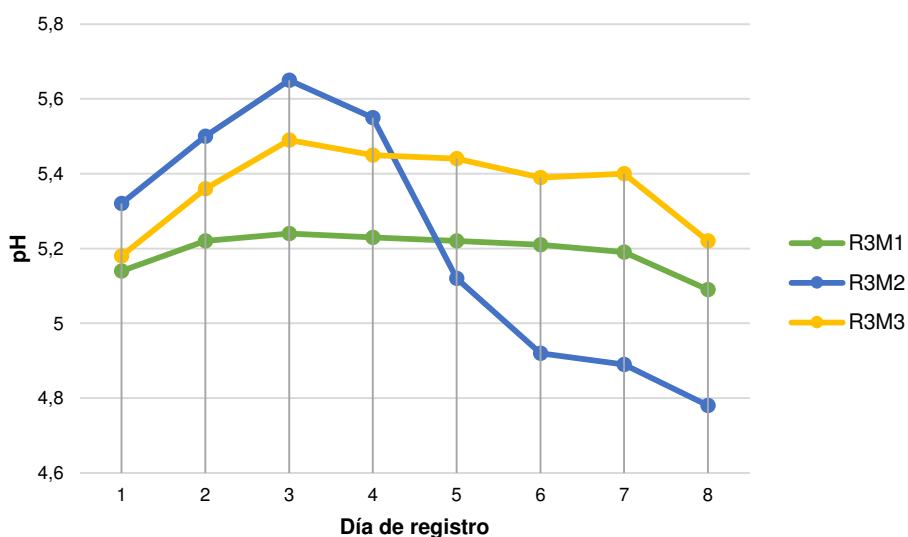
**4.1.1.3 Evaluación del pH en el medio de cultivo madre de las muestras provenientes de la Región Amazónica.**

Es evidente que el primer día de registros el pH más alto se registró en la muestra de banano R3M2 con 5,32, lo que se contrasta con la Región interandina donde la situación es similar en tanto que la lectura más baja fue adjudicada al café con 5,14 frente al limón R3M3 que solo pudo formalizar una medida de 5,18. Por el contrario al finalizar los ensayos en el día ocho el valor más bajo de potencial de hidrogeno pH recayó sobre el banano R3M1 con 4,78 cediendo como el promedio superior al limon R3M3 con 5,22 (Tabla 7).

**Tabla 7:** Valores de pH en el cultivo madre de las muestras procedentes de procedentes de la Región Costa.

Muestra	Día							
	1	2	3	4	5	6	7	8
R3M1	5,14	5,22	5,24	5,23	5,22	5,21	5,19	5,09
R3M2	5,32	5,50	5,65	5,55	5,12	4,92	4,89	4,78
R3M3	5,18	5,36	5,49	5,45	5,44	5,39	5,40	5,22

En la Figura 23 es notorio que en la Región Amazónica todas las muestras exhibieron un comportamiento similar desde el día elevando su pH hasta el día dos, desde el tercer día absolutamente todas las muestras comenzaron un súbito descenso hasta el octavo y último día.



**Figura 23:** Variación de pH en los medios de cultivo madre de las muestras procedentes de la Región Amazónica

#### 4.1.2 Registro de pH en la producción de microorganismos benéficos procedentes de las diferentes regiones naturales del Ecuador

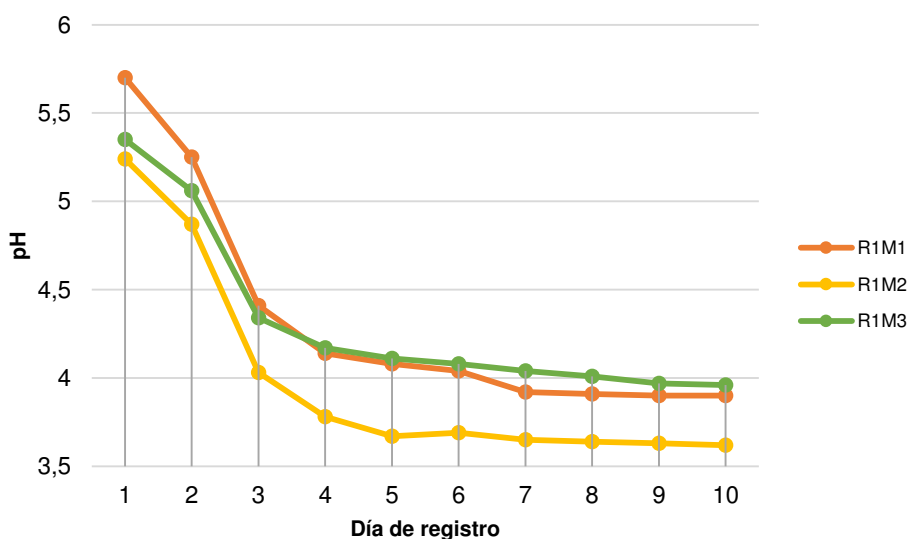
##### 4.1.2.1 Registro de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras provenientes de la Región Costa.

Al igual que con las soluciones madres la medición del pH en el primer día se registraron los valores más elevados, a la muestra de café R1M1 le correspondió 5,70 en contraposición con el banano R1M2 que ostenta el promedio más bajo de 5,24 en tanto que al décimo día el registro menor fue en el tratamiento R1M2 de banano con 3,62 dejando al café R1M1 como el pH más importante de 3,90 (Tabla 8). La diferencia clara con el protocolo anterior que ha podido observarse es la disminución de pH llegando a valores menores a 4.

**Tabla 8:** Valores de pH en los medio de cultivo de MOBs procedentes de la Región Costa

Muestra	Día									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
R1M1	5,70	5,25	4,41	4,14	4,08	4,04	3,92	3,91	3,90	3,90
R1M2	5,24	4,87	4,03	3,78	3,67	3,69	3,65	3,64	3,63	3,62
R1M3	5,35	5,06	4,34	4,17	4,11	4,08	4,04	4,01	3,97	3,96

Como ya se había mencionado con anterioridad el comportamiento del pH fue similar en todos los medios de cultivo los cuales presentaron un descenso similar, controlado y progresivo desde el día 1 al día 10 (Figura 24).



**Figura 24:** Variación de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras de la Región Costa

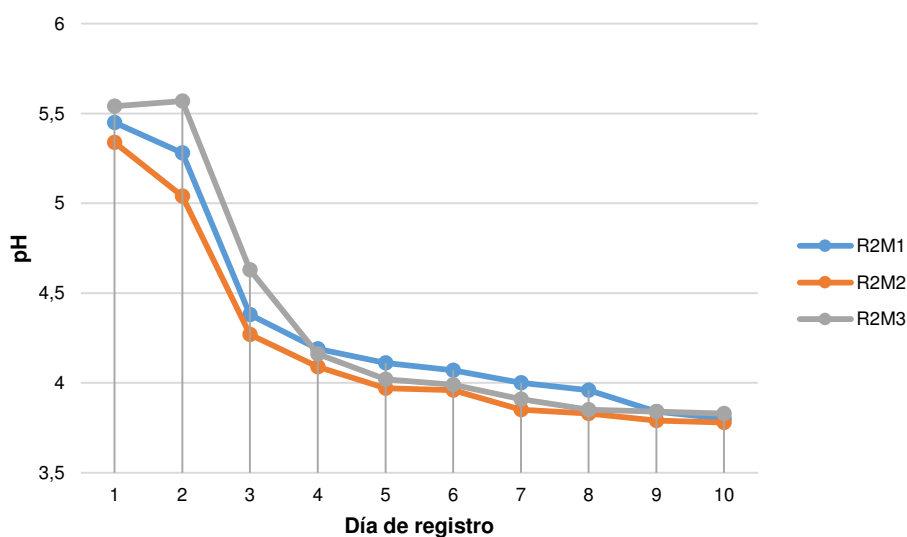
#### 4.1.2.2 Registro de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras provenientes de la Región Sierra.

De acuerdo a los registros expuestos en la Tabla 9, inicialmente todos los valores de cada uno de los medios de cultivo de MOB's presentaron valores superiores a 5. El valor más alto de todos los registros se pudo evidenciar el primer día con 5,54 para la muestra de limón R2M3 mientras que el banano R2M2 marcó el valor más bajo con un promedio de 5,34, para el décimo día de experimentación el valor más bajo de pH fue adjudicado para el banano con código R2M2 con 3,78 frente al café R2M3 con solo 3,83.

**Tabla 9:** Valores de pH en los medio de cultivo de MOB's provenientes de la Región Sierra.

Muestra	Día									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
R2M1	5,45	5,28	4,38	4,19	4,11	4,07	4,00	3,96	3,84	3,80
R2M2	5,34	5,04	4,27	4,09	3,97	3,96	3,85	3,83	3,79	3,78
R2M3	5,54	5,57	4,63	4,16	4,02	3,99	3,91	3,85	3,84	3,83

En la Figura 25 se confirma un descenso progresivo y gradual del pH para todas y cada una de las muestras, descenso que comienza desde el día dos hasta el último día de registros de pH en todas y cada una de las soluciones de microorganismos benéficos.



**Figura 25:** Variación de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras provenientes de la Región Sierra.

#### 4.1.2.3 Registro de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras provenientes de la Región Amazónica.

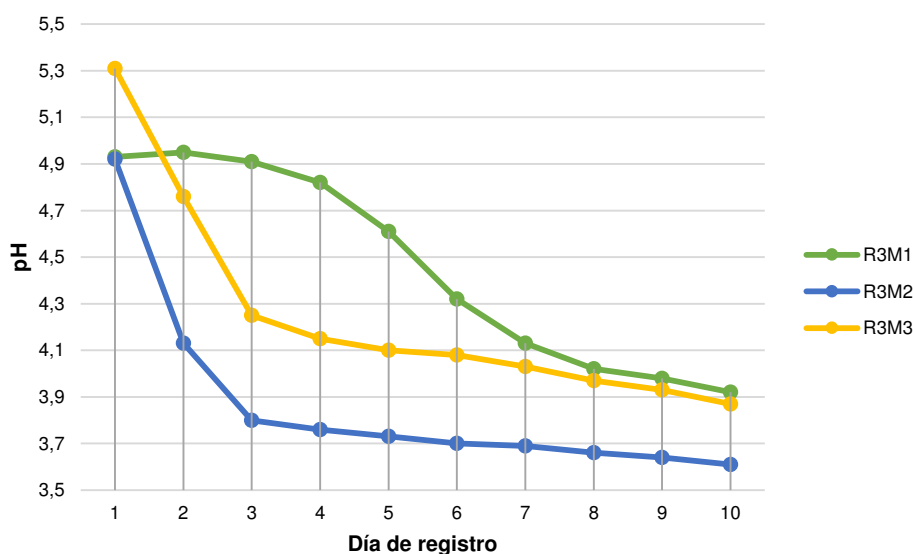
Sin importar el tipo de vegetal el descenso en los valores de pH fue igual y uniforme a lo largo de todo el procedimiento, el primer día en todas las muestras los valores no

sobrepasaron de 5,31 es el caso de la muestra de limón R3M3 al mismo tiempo que no bajaron de 4,9 (muestras de café R3M1 y banano R3M2). Para el décimo y último día el pH ya había descendido a promedios por debajo de 4 pero superiores 3,6 es el caso de la muestra de banano R2M2 con 3,61 (siendo la lectura más baja) al contrario del registro más alto para este día de café R3M1 con 3,92. Todos los resultados están resumidos en (Tabla 10).

**Tabla 10:** Valores de pH en los medio de cultivo de MOBs procedentes de la Región Amazónica.

Muestra	Día									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
R3M1	4,93	4,95	4,91	4,82	4,61	4,32	4,13	4,02	3,98	3,92
R3M2	4,92	4,13	3,80	3,76	3,73	3,70	3,69	3,66	3,64	3,61
R3M3	5,31	4,76	4,25	4,15	4,10	4,08	4,03	3,97	3,93	3,87

Al igual que en todos los procedimientos anteriores el descenso en el pH es similar para cada una de las muestras, la variación se hace mucho más acentuada en la recta final de las mediciones cuando ya se ha producido una estabilización del parámetro tal y como se aprecia en la figura 26.



**Figura 26:** Variación de pH en los medios de cultivo de microorganismos benéficos de las muestras provenientes de la Región Amazónica.

Para garantizar un adecuado crecimiento de cada género y especie microbiana (Cortés, 2004) menciona que es necesario un nivel adecuado de pH, además hay que recordar que si bien cada microorganismo tolera un valor final de pH, existen rangos de este parámetro dentro del cual el organismo puede desarrollarse plenamente.

Continuando con un análisis profundo de los resultados de pH obtenidos nos queda claro que los valores de este, no están vinculados a la especie vegetal sino al consorcio microbiano que puebla su filósfera. De manera similar a lo efectuado por Alvarez (2018) el pH del medio de cultivo de microorganismos benéficos siempre se mantuvo inferior al de las soluciones madres, dado que la carga microbiana se incrementa a medida transcurre el tiempo de experimentación y esta se halla estrictamente vinculada a las propiedades del consorcio que puebla la filósfera del vegetal en cuestión.

En las muestras de la Región Sierra se observan los menores valores de pH en comparación con las otras dos regiones en estudio, lo que nos podría sugerir una elevada presencia de bacterias ácido lácticas en la filósfera de los tres vegetales en estudio, situación similar a los resultados reportados por (Arias, 2010).

Hay que recordar que un factor determinante una vez iniciada esta sección del experimento fue el descenso gradual en el pH, mismo que permitió el desarrollo de consorcios microbianos concretos. Si bien la mayoría de bacterias benéficas son neutrófilas, recordando la importancia que otorga Palomino *et al.* (1995) a la neutralidad del medio como una condición que garantiza un crecimiento más propicio para el microorganismo, sin embargo en esta investigación únicamente de los consorcios microbianos identificados solo *Pseudomonas* y *Enterobacterias* se apegan a esta realidad. Las bacterias ácido lácticas presentes mayoritariamente en la filósfera del limon (como se verá más adelante) pueden tolerar sin dificultad valores de pH ácidos como 3, incluso se han reportado levaduras (organismos más abundantes presentes en los vegetales de las tres regiones) que no tendrían problemas con desarrollarse a un pH 2. Actinomicetos y *Bacillus* también requieren de un medio ácido para su óptimo crecimiento. Para Carr *et al.* (2002) contadas especies microbianas podrían soportar valores de pH mayores a 10 y menores a 2.

## 4.2 Unidades formadoras de colonias de microorganismos benéficos (UFC.ml<sup>-1</sup>)

### 4.2.1 Unidades formadoras de colonias de microorganismos benéficos de acuerdo a su Región natural de procedencia (log UFC.ml<sup>-1</sup>).

#### 4.2.1.1 Unidades formadoras de colonias en los consorcios microbianos provenientes de la Región Costa.

Los resultados de la concentración de consorcios microbianos en log UFC.ml<sup>-1</sup> de las muestras obtenidas de la Región se pueden observar en la Tabla 11, es visible una mayor presencia de consorcios microbianos en la muestra de la especie de banano, seguido de la muestra obtenida del café.

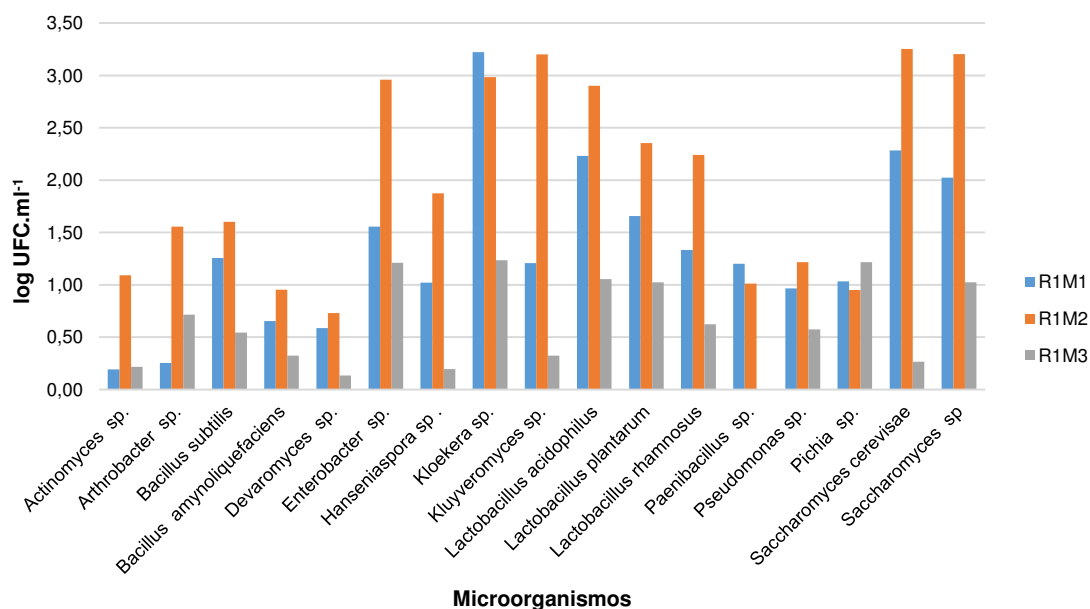
**Tabla 11:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Costa.

Microorganismos	R1M1	R1M2	R1M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>		
<i>Actinomyces</i> sp.	0,1920122	1,0923154	0,2165116
<i>Arthrobacter</i> sp.	0,2517845	1,5546265	0,7154513
<i>Bacillus subtilis</i>	1,2547283	1,6032468	0,5421341
<i>Bacillus amynoliquefaciens</i>	0,6548815	0,9520165	0,3245798
<i>Devaromyces</i> sp.	0,5862142	0,7314248	0,1324754
<i>Enterobacter</i> sp.	1,5562448	2,9598478	1,2102154
<i>Hanseniapora</i> sp.	1,0215484	1,8754674	0,1956514
<i>Kloekera</i> sp.	3,2211544	2,9854089	1,2345451
<i>Kluyveromyces</i> sp.	1,2081205	3,2016411	0,3244157
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2,2315454	2,9019878	1,0546844
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1,6582145	2,3544678	1,0247032
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1,3325148	2,2415391	0,6231845
<i>Paenibacillus</i> sp.	1,2016579	1,0124413	n.d.
<i>Pseudomonas</i> sp.	0,9658405	1,2150154	0,5743164
<i>Pichia</i> sp.	1,0325458	0,9512473	1,2154348
<i>Saccharomyces cerevisae</i>	2,2851342	3,2547634	0,2665783
<i>Saccharomyces</i> sp	2,0244577	3,2057958	1,0236305

Al observar la Figura 27, es evidente la elevada presencia de levaduras del género *S. cerevisae*, en la muestra de cultivo elaborada a base de banano R1M2 con una media de 3,2547634 log UFC.ml<sup>-1</sup>, siendo esta la mayor concentración microbiana registrada en la Región Costa. Seguidamente se dispone de una amplia presencia de otras levaduras indígenas como *Kluyveromyces* sp, con valores que recaen en 1,2081205 y 3,2016411 log UFC ml<sup>-1</sup> esta vez en las preparaciones de café R1M1 y banano R1M2 respectivamente. La menor concentración de microbiología en la Región se presencié para el género *Devaromyces* sp., donde en ninguna de las soluciones sus valores expresados en log UFC ml<sup>-1</sup> fue mayor a 0,7314248 log UFC.ml<sup>-1</sup> (muestra de banano

R1M2). No existe presencia significativa de *Pseudomonas spp* con una concentración de 0,5743164 log UFC.ml<sup>-1</sup> en la muestra de limón R1M3.

Las bacterias del ácido láctico juegan un papel fundamental dentro de esta Región tropical al corroborarse su presencia con géneros que van desde *Lactobacillus acidophilus* con su presencia más elevada en la muestra R1M2 de banano (2,9019878 log UFC.ml<sup>-1</sup>) hasta *Lactobacillus rhamnosus* con 2,2415391 log UFC.ml<sup>-1</sup> en el mismo vegetal. Dentro de Bacillus, *Bacillus subtilis* demostró la mayor concentración en la muestra de banano con 1,6032468 log UFC.ml<sup>-1</sup> frente a *Paenibacillus sp* mismo que no pudo ser determinado en la muestra de limon R1M3. *Actinomyces sp* es el mayor representante de los actinomicetos en la Región costanera pero su presencia es de tan solo 1,0923154 log UFC ml<sup>-1</sup> en el banano R1M2 y 0,1920122 UFC ml<sup>-1</sup> en el café R1M1.



**Figura 27:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Costa.

#### 4.2.1.2 Unidades formadoras de colonias en los consorcios microbianos provenientes de la Región Sierra.

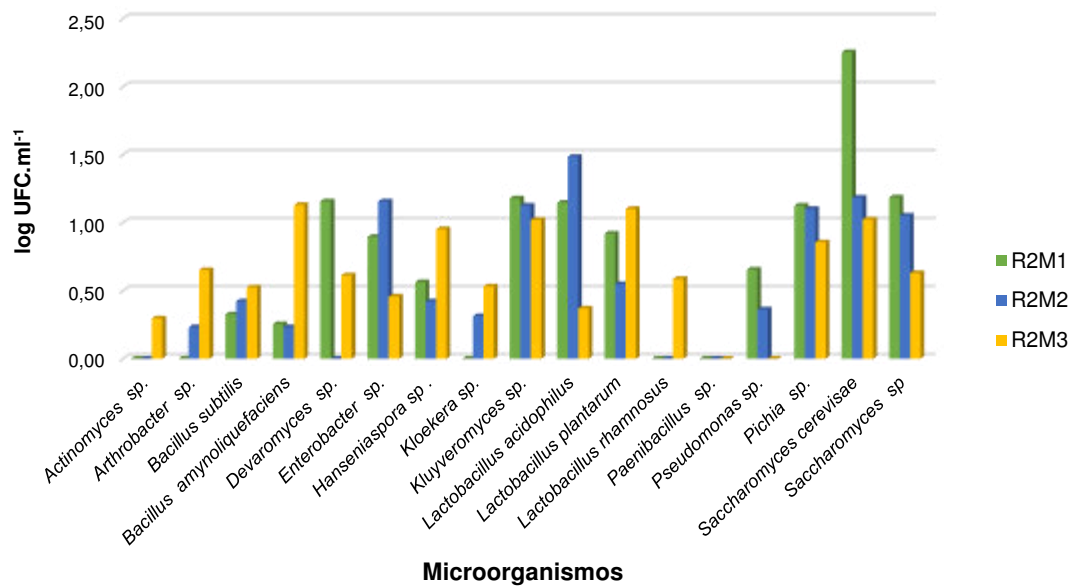
De acuerdo a los resultados obtenidos y representados en la Tabla 12, se constató que no existe una predominancia marcada en potencial de UFC.ml<sup>-1</sup> de microorganismos benéficos con respecto a las especies vegetales analizadas, puesto que los valores de las concentraciones del café, banano y limón representan una diferencia significativa unas de otras.

**Tabla 12:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Sierra

Microorganismos	R2M1	R2M2	R2M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>		
<i>Actinomyces</i> sp.	n.d.	n.d.	0,2965838
<i>Arthrobacter</i> sp.	n.d.	0,2314735	0,6521548
<i>Bacillus subtilis</i>	0,3265475	0,4215487	0,5241274
<i>Bacillus amynoliquefaciens</i>	0,2542101	0,2315486	1,1305621
<i>Devaromyces</i> sp.	1,1574584	n.d.	0,6132472
<i>Enterobacter</i> sp.	0,8958748	1,1562129	0,4574515
<i>Hanseniaspora</i> sp.	0,5621484	0,4215485	0,9530147
<i>Kloekera</i> sp.	n.d.	0,3121465	0,5321556
<i>Kluyveromyces</i> sp.	1,1784205	1,1251547	1,0210478
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,1475485	1,4851775	0,3695124
<i>Lactobacillus plantarum</i>	0,9195684	0,5487546	1,10214
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	n.d.	n.d.	0,5875157
<i>Paenibacillus</i> sp.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Pseudomonas</i> sp.	0,6547419	0,3621543	n.d.
<i>Pichia</i> sp.	1,12484557	1,1024521	0,8562144
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,25481848	1,1845727	1,0245751
<i>Saccharomyces</i> sp	1,1856473	1,0512786	0,6294876

En la Región interandina la elevada presencia de levaduras del género *S. cerevisiae*, recae sobre la muestra R2M1 de café con un promedio de 2,254 log UFC.ml<sup>-1</sup>, siendo así la mayor concentración en unidades formadoras de colonias encontrada de entre todos los géneros de levaduras identificados en las muestras de esta Región del Ecuador. Ahora llama mucho la atención que, en esta Región del país, concretamente la provincia del Azuay, existan concentraciones nulas de ciertos géneros promotores del crecimiento en los que se incluyen *Paenibacillus* sp, reportado como no determinado en todas las muestras (café, banano y limón). La presencia de bacterias del ácido láctico es variable, es abundante en el caso de *Lactobacillus acidophilus*, sobre todo si se tiene en cuenta la muestra R2M2 de banano 1,4851775 log UFC.ml<sup>-1</sup>, por contraparte

*Lactobacillus rhamnosus.*, no se registra presencia en los cultivos de café y banano (R2M1 y R2M1), únicamente deja su huella en la solución madre R2M3 de limón con una concentración no mayor a 0,587 log UFC.ml<sup>-1</sup>. No existe la presencia de Actinomicetos en las muestras de café y banano (R2M1 y R2M2). Por otro lado la concentración de Pseudomonas es tan baja que incluso puede que llegará a ser inexistente en la muestra de limón R2M3 y no superar de 0,6547419 log UFC.ml<sup>-1</sup> en el caso del café R2M1 (Figura 28).



**Figura 28:** Comparación de log UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Sierra.

#### 4.2.1.3 Unidades formadoras de colonias en los consorcios microbianos provenientes de la Región Amazónica.

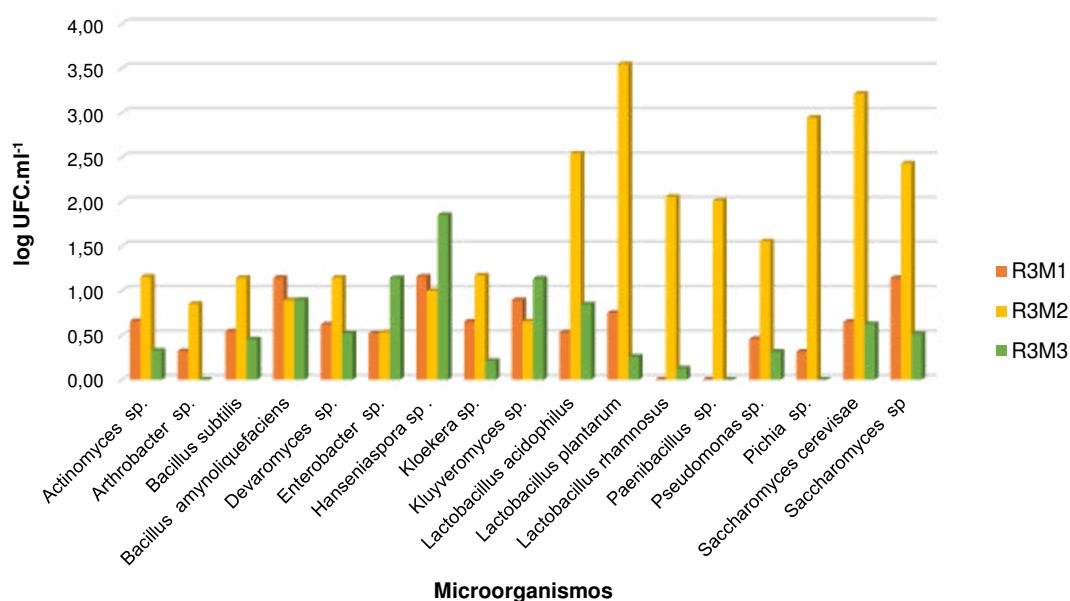
De acuerdo a los resultados de la Tabla 13, se observa que en la Región Amazónica se identificaron mayor cantidad de UFC.ml<sup>-1</sup> en la muestra obtenida del banano R3M2, seguido del café y finalmente el limón con el menor potencial de UFC.ml<sup>-1</sup>.

**Tabla 13:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Amazónica.

Microorganismos	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>		
<i>Actinomyces</i> sp.	0,6584211	1,1584217	0,3251453
<i>Arthrobacter</i> sp.	0,3214241	0,8513147	n.d.
<i>Bacillus subtilis</i>	0,5421534	1,1452144	0,4517075
<i>Bacillus amynoliquefaciens</i>	1,1451758	0,8951234	0,8954751
<i>Devaromyces</i> sp.	0,6215482	1,1475132	0,5214378
<i>Enterobacter</i> sp.	0,5214575	0,5321456	1,1425414
<i>Hanseniaspora</i> sp.	1,1584791	0,9985621	1,8512455
<i>Kloekera</i> sp.	0,6521474	1,1713245	0,2108627
<i>Kluyveromyces</i> sp.	0,8945751	0,6542153	1,1359212
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0,5321424	2,5421467	0,8451474
<i>Lactobacillus plantarum</i>	0,7514515	3,5474614	0,2584757
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	n.d.	2,0545846	0,1255215
<i>Paenibacillus</i> sp.	n.d.	2,0132421	n.d.
<i>Pseudomonas</i> sp.	0,45751321	1,5545214	0,3147821
<i>Pichia</i> sp.	0,31475137	2,9454989	n.d.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,65214831	3,2156858	0,6248501
<i>Saccharomyces</i> sp	1,14218473	2,4301578	0,5142143

Dos géneros microbianos tuvieron el protagonismo dada su mayor presencia en las soluciones preparadas a base de consorcios microbianos presentes en la filósfera de tres vegetales recolectados en la Amazonia Ecuatoriana, los mismos son bacterias del ácido láctico y levaduras. En el caso de bacterias del ácido láctico; *Lactobacillus plantarum*, lleva la posta sobre todo en la muestra de banano R3M2 con 3.5474614 log UFC ml<sup>-1</sup>, seguido de *Lactobacillus acidophilus*, igualmente con una elevada concentración en la muestra de banano R3M2 de 2,5421467 UFC ml<sup>-1</sup>. Se identificó una gran diversidad de levaduras entre las cuales se destaca *Devaromyces* sp, con una baja población en lo que refiere a unidades log UFC ml<sup>-1</sup> sobre todo en la muestra de limón R3M3 donde este valor se ubica en 0,5214378 UFC ml<sup>-1</sup>. *Bacillus subtilis* y *Bacillus amynoliquefaciens* presentan la misma concentración de unidades formadoras de colonias 1,1451758 UFC ml<sup>-1</sup> en el primer caso en la muestra de banano R3M2 y en el segundo caso para el café R3M1. *Arthrobacter* sp no estuvo presente en la muestra de

limón R3M3, siendo así la menor concentración de Actinomicetos registrada en la Región sierra. Todos estos antecedentes están detallados claramente en la (Figura 29).



**Figura 29:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos provenientes de la Región Amazónica.

Únicamente en el café procedente de las tres regiones naturales del país la mayor concentración microbiana estuvo regida por la presencia de levaduras sobre todo en *Saccharomyces*, en las plantas de banano y limón se observó un aumento en la presencia de bacterias ácido lácticas sobre todo de *Lactobacillus acidophilus* lo que nos indicaría que el desarrollo microbiano no está relacionado directamente con la localización geográfica sino con el vegetal en el cual se desarrolla y sus metabolitos secundarios presentes en la filósfera (como se verá detalladamente en la siguiente sección).

#### 4.2.2 Unidades formadoras de colonias de microorganismos benéficos de acuerdo a la especie vegetal en estudio (UFC.ml<sup>-1</sup>)

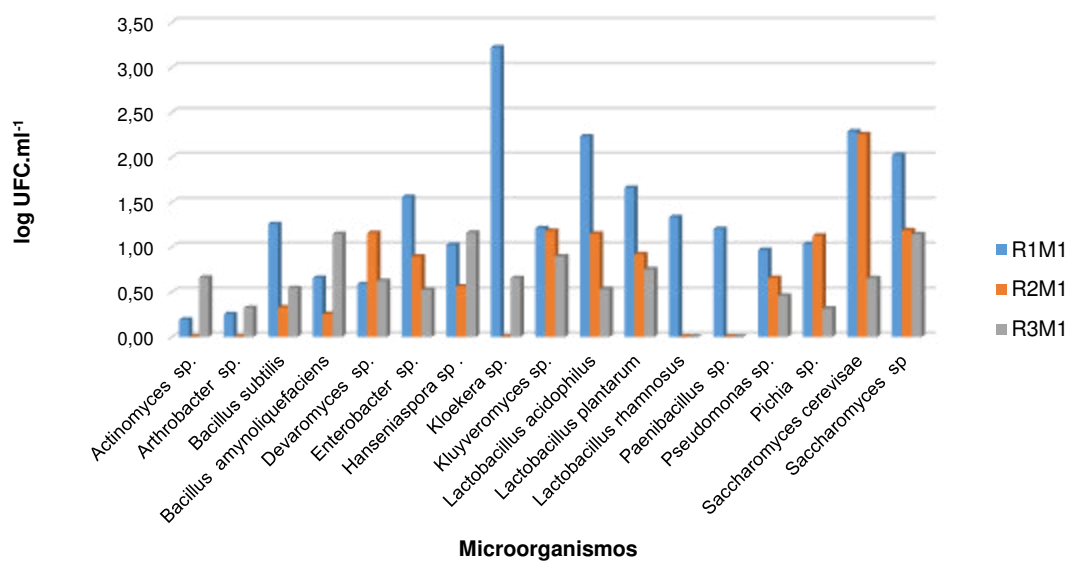
##### 4.2.2.1 Unidades formadoras de colonias en los consorcios microbianos presentes en la filósfera de *Coffea arabica*.

En la (Tabla 14) se han agrupado los resultados de las UFC.ml<sup>-1</sup> para todos los medios de cultivos preparados con microorganismos benéficos de café provenientes de las tres regiones naturales del país.

**Tabla 14:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: *Coffea arabica*.

Microorganismos	R1M1	R2M1	R3M1
	log UFC.ml <sup>-1</sup>		
<i>Actinomyces sp.</i>	0,1920122	n.d.	0,6584211
<i>Arthrobacter sp.</i>	0,2517845	n.d.	0,3214241
<i>Bacillus subtilis</i>	1,2547283	0,3265475	0,5421534
<i>Bacillus amynoliquefaciens</i>	0,6548815	0,2542101	1,1451758
<i>Devaromyces sp.</i>	0,5862142	1,1574584	0,6215482
<i>Enterobacter sp.</i>	1,5562448	0,8958748	0,5214575
<i>Hanseniaspora sp.</i>	1,0215484	0,5621484	1,1584791
<i>Kloekera sp.</i>	3,2211544	n.d.	0,6521474
<i>Kluyveromyces sp.</i>	1,2081205	1,1784205	0,8945751
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2,2315454	1,1475485	0,5321424
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1,6582145	0,9195684	0,7514515
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1,3325148	n.d.	n.d.
<i>Paenibacillus sp.</i>	1,2016579	n.d.	n.d.
<i>Pseudomonas sp.</i>	0,9658405	0,6547419	0,45751321
<i>Pichia sp.</i>	1,0325458	1,12484557	0,31475137
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,2851342	2,25481848	0,65214831
<i>Saccharomyces sp</i>	2,0244577	1,1856473	1,14218473

Quando nos centramos netamente en el estudio del café recolectado de las tres regiones naturales del país observamos amplia diversidad microbiana, *Kloekera sp.*, una levadura indígena se consolida como el género microbiano más abundante de la Región Costa R1M1, extraído a partir de la filósfera de este vegetal (3,2211544 log UFC.ml<sup>-1</sup>). Otras levaduras más conocidas como *Saccharomyces cerevisiae* igualmente obtuvieron una elevada concentración en la Región Sierra con 2,25481848 log UFC.ml<sup>-1</sup>, seguido de la Región costa con 2,2851342 UFC.ml<sup>-1</sup>. Por otro lado existe una baja presencia de Actinomicetos de tal suerte que *Actinomyces sp.*, está ausente en la sierra y se halla extremadamente bajo en la costa con tan solo 0,1920122 log UFC.ml<sup>-1</sup> (Figura 30). Existieron tres especies claves de *Lactobacillus*; *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus* donde *Lactobacillus acidophilus* acumuló hasta 2,2315454 log UFC.ml<sup>-1</sup> en la muestra de café R1M1, con *Bacillus subtilis* representante de los *Bacillus* la mayor concentración fue de 1,2547283 log UFC.ml<sup>-1</sup> en la muestra R1M1.



**Figura 30:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: *Coffea arabica*.

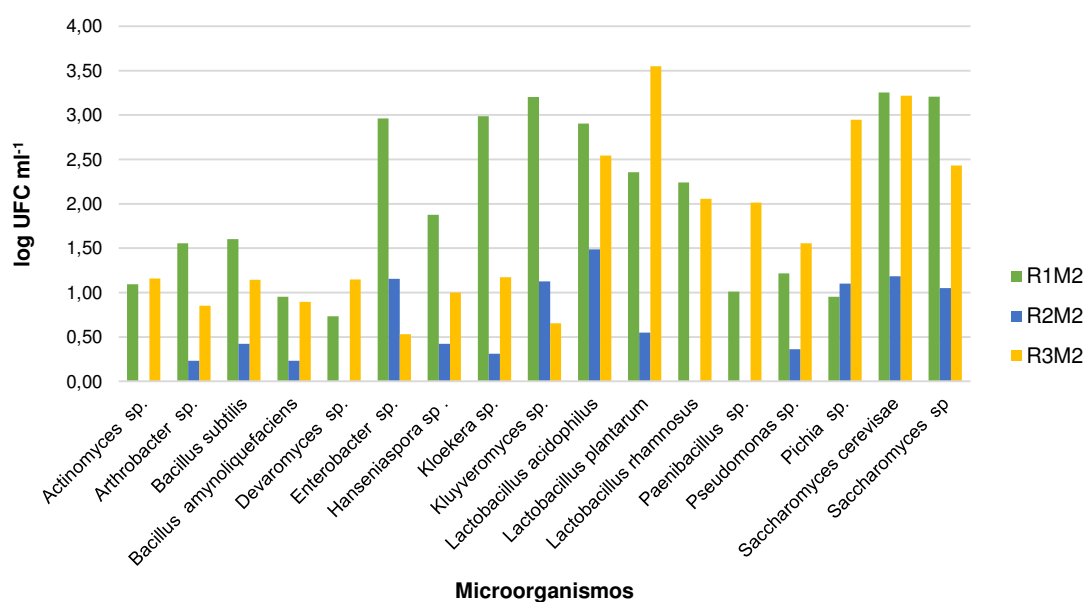
#### 4.2.2.2 Unidades formadoras de colonias en los consorcios microbianos presentes en la filósfera de *Musa paradisiaca*.

En la (Tabla 15) pueden observarse los resultados de las UFC.ml<sup>-1</sup> agrupados para los medios de cultivos con microorganismos benéficos de banano provenientes de las tres regiones naturales del país.

**Tabla 15:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: *Musa paradisiaca*

Microorganismos	R1M2	R2M2	R3M2
	log UFC.ml <sup>-1</sup>		
<i>Actinomyces sp.</i>	1,0923154	n.d.	1,1584217
<i>Arthrobacter sp.</i>	1,5546265	0,2314735	0,8513147
<i>Bacillus subtilis</i>	1,6032468	0,4215487	1,1452144
<i>Bacillus amynoliquefaciens</i>	0,9520165	0,2315486	0,8951234
<i>Devaromyces sp.</i>	0,7314248	n.d.	1,1475132
<i>Enterobacter sp.</i>	2,9598478	1,1562129	0,5321456
<i>Hanseniaspora sp.</i>	1,8754674	0,4215485	0,9985621
<i>Kloekera sp.</i>	2,9854089	0,3121465	1,1713245
<i>Kluyveromyces sp.</i>	3,2016411	1,1251547	0,6542153
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2,9019878	1,4851775	2,5421467
<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,3544678	0,5487546	3,5474614
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	2,2415391	n.d.	2,0545846
<i>Paenibacillus sp.</i>	1,0124413	n.d.	2,0132421
<i>Pseudomonas sp.</i>	1,2150154	0,3621543	1,5545214
<i>Pichia sp.</i>	0,9512473	1,1024521	2,9454989
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3,2547634	1,1845727	3,2156858
<i>Saccharomyces sp.</i>	3,2057958	1,0512786	2,4301578

Al observar la Figura 31, vemos que el banano (*Musa paradisiaca*) se presentó más diversificado que el café en cuanto a su microbiología en todas las regiones naturales del país. Por sobre todo destaca una amplia presencia de bacterias del ácido láctico y levaduras, del lado de las bacterias del ácido láctico *Lactobacillus plantarum* obtuvo una elevada cantidad de unidades formadoras de colonias en la Región amazónica con 3.5474614 log UFC.ml<sup>-1</sup>, igualmente Región sierra con algo más de 2,3544678 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Vemos el ejemplo de *Saccharomyces cerevisiae* con 3,254763 UFC.ml<sup>-1</sup> en la costa y 3,2156858 log UFC.ml<sup>-1</sup> en la Amazonia, *Saccharomyces sp.*, registraron valores semejantes por ejemplo en la Región costa una lectura de 3,2057958 log UFC.ml<sup>-1</sup> dejando ver un pequeño descenso en su concentración de UFC en el oriente con 2,4301578 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Los actinomicetos como *Arthrobacter sp.*, no consiguieron mayor población de su consorcio por ejemplo en la sierra fue su media logarítmica de solo 0,2314735 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Finalmente se pudo constatar que existió una baja concentración de *Bacillus subtilis* con 0,4215487 log UFC.ml<sup>-1</sup> en la Región sierra contrarrestando a la Región costa que se llevó de por sí sola el mayor porcentaje 1,6032468 log UFC ml<sup>-1</sup>.



**Figura 31:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: *Musa paradisiaca*.

#### 4.2.2.3 Unidades formadoras de colonias en los consorcios microbianos presentes en la filósfera de *Citrus limon*.

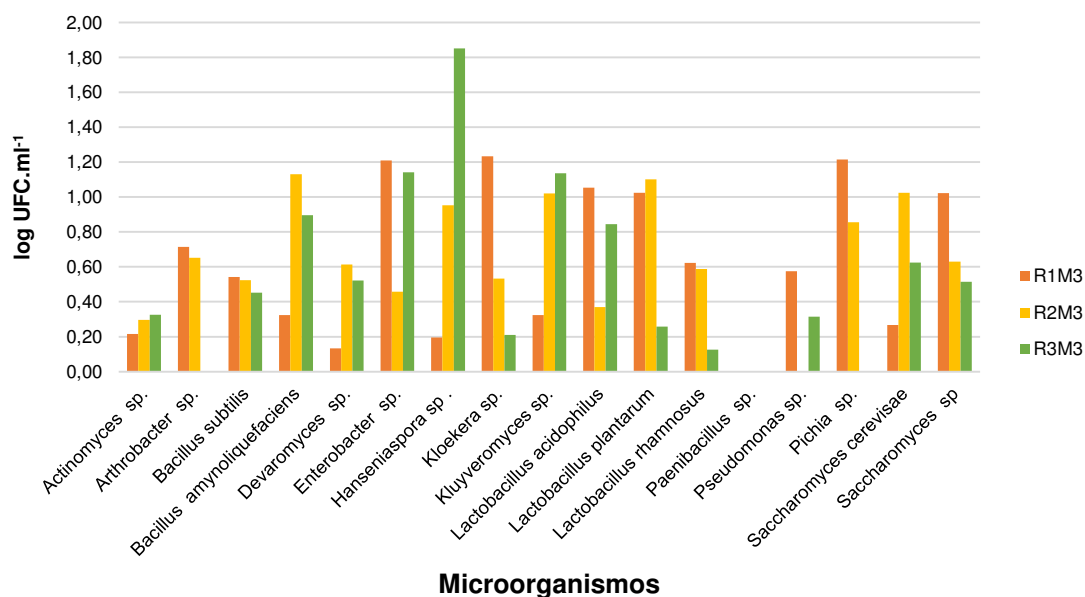
De acuerdo a los resultados obtenidos de las muestras analizadas de las plantas de limón procedentes de las tres regiones del Ecuador y representados en la Tabla 16, se puede constatar que la muestra analizada de la Región Sierra es la que tiene mayor cantidad de unidades formadoras de colonias, seguida de las muestra obtenida en la Región Costa y con un número menor de unidades formadoras de colonias la muestra de café obtenida de la Región Amazónica.

**Tabla 16:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: *Citrus limon*

Microorganismos	R1M3	R2M3	R3M3
	log UFC m <sup>-1</sup>		
<i>Actinomyces</i> sp.	0,2165116	0,2965838	0,3251453
<i>Arthrobacter</i> sp.	0,7154513	0,6521548	n.d.
<i>Bacillus subtilis</i>	0,5421341	0,5241274	0,4517075
<i>Bacillus amynoliquefaciens</i>	0,3245798	1,1305621	0,8954751
<i>Devaromyces</i> sp.	0,1324754	0,6132472	0,5214378
<i>Enterobacter</i> sp.	1,2102154	0,4574515	1,1425414
<i>Hanseniaspora</i> sp.	0,1956514	0,9530147	1,8512455
<i>Kloekera</i> sp.	1,2345451	0,5321556	0,2108627
<i>Kluyveromyces</i> sp.	0,3244157	1,0210478	1,1359212
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0546844	0,3695124	0,8451474
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1,0247032	1,10214	0,2584757
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	0,6231845	0,5875157	0,1255215
<i>Paenibacillus</i> sp.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Pseudomonas</i> sp.	0,5743164	n.d.	0,3147821
<i>Pichia</i> sp.	1,2154348	0,8562144	n.d.
<i>Saccharomyces cerevisae</i>	0,2665783	1,0245751	0,6248501
<i>Saccharomyces</i> sp	1,0236305	0,6294876	0,5142143

Un género de levaduras pre-fermentativas es *Hanseniaspora* sp., cuya muestra filosférica procede de la Región Amazónica ocupa la mayor concentración en cuanto a unidades formadoras de colonias con 1,8512455 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Es importante mencionar la ausencia de un importante género de *Bacillus* promotoras del crecimiento bacteriano como es *Paenibacillus* sp en las tres regiones naturales del país. Las bacterias del ácido láctico se hallan en una concentración media siendo *Lactobacillus rhamnosus* la especie con las menores concentraciones sobre todo en la Región Amazónica con 0,1255215 log UFC.ml<sup>-1</sup>. *Actinomyces* sp., presenta poblaciones bajas en las tres regiones naturales del Ecuador así por ejemplo en la Región Costa (la más baja) está en 0,2165116 log UFC.ml<sup>-1</sup> en contraparte con la Región Amazónica que no puede superar

un valor logarítmico promedio de unidades formadoras de colonias superior estimado en 0,3251453 UFC.ml<sup>-1</sup>, tal y como se representa en la Figura 32.



**Figura 32:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> en los medios de cultivo de microorganismos benéficos en base a la especie vegetal en estudio: *Citrus limon*.

De los resultados obtenidos de acuerdo al vegetal en estudio, se evidencia que en la planta de café (*Coffea arabica*) hubo gran presencia de poblaciones de levaduras en su filósfera con un promedio en las tres regiones de 1,01 UFC.ml<sup>-1</sup>. El café es el vegetal a partir del cual se prepara la bebida más popular conocida en el planeta que lleva su mismo nombre, sus componentes ricos en compuestos nitrogenados, ácidos volátiles como el ácido acético, hidratos de carbono no saturados, diterpenos, ácidos no volátiles como el ácido pirúvico y tartárico explicarían la predominancia de estos organismos por sobre otras poblaciones microbianas (Mazinani *et al.*, 2017a). *S. cerevisiae* ha demostrado su presencia en la filósfera del café por sobre otras especies de levaduras, sobre todo en la Región Costa y Amazonia, en base a las investigaciones de Yadav *et al.* (2017) se puede advertir que dichos organismos sienten una poderosa atracción por esteres fenólicos presentes en el café resultados de la unión éster entre el ácido quínico y el ácido cafeico llamados ácidos clorogénicos otra poderosa razón que podría explicar la masiva presencia de esta especie en la filósfera de esta planta familia de las *Rubiaceae* (Gotteland & de Pablo V, 2007b).

En las muestras filoféricas preparadas a base del banano (*Musa paradisiaca*), el grupo de microorganismos predominantes fueron las bacterias ácido lácticas. La elevada presencia de estos organismos sobre todo en *Lactobacillus acidophilus*, podría

explicarse por su acentuado contenido de compuestos fenólicos como la galocatequina y la dopamina, sumado a un exacerbado incremento de catecolaminas y de antocianinas (cianidina) sobre todo en el raquis del banano y en su filósfera, mas una rica mezcla de esteroides y triterpenos como el campesterol (Castro, 2015). Para Bermúdez Camacho (2016), estos metabolitos secundarios del vegetal son los encargados mayoritarios en la regulación de la interacción vegetal-microorganismo dado su pH óptimo de 3 que garantiza y posibilita el adecuado crecimiento de bacterias ácido lácticas; donde además participan otros factores tales como los criterios ecológicos que envuelven a la planta de banano, el genotipo de la lavadura y otros exudados propios de la filósfera del vegetal.

En el limón la población de microorganismos mayoritaria resultaron ser las bacterias del ácido láctico sobre todo *Lactobacillus acidophilus* esto debido al descenso en el pH del medio a valores incluso menores a 4 donde *Lactobacillus* vive y se desarrolla plenamente sin mayor interferencia por microorganismos competidores como levaduras. Como lo describe en sus estudios Villanueva (2007), la presencia de compuestos de pH ácido menores a 6 como ácidos gamma terpineno, cafeico, láctico y betacarotenos vuelve a la filósfera en el lugar ideal para el crecimiento de bacterias del ácido láctico como los *Lactobacillus*. Pese a que siempre las partes aéreas vegetales se hallan dominadas en su mayoría por levaduras y hongos en este caso la mayor presencia de bacterias del ácido láctico podría deberse a exudados de la cutícula de tipo poliméricos que facilitan y posibilitan el desarrollo de estos géneros bacterianos en particular (Villanueva, 2006).

### 4.2.3 Unidades formadoras de colonias por especie de microorganismos benéficos (UFC.ml<sup>-1</sup>)

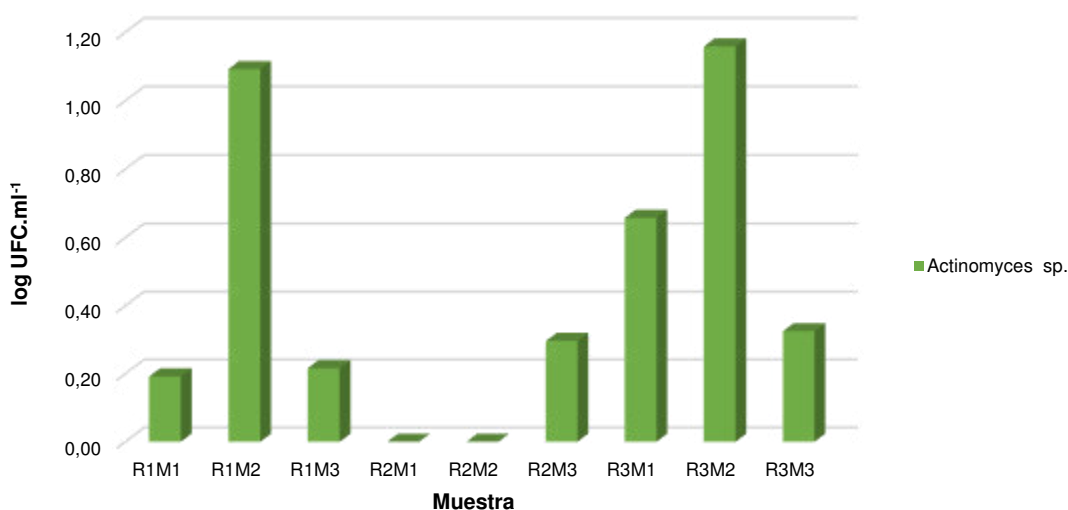
#### 4.2.3.1 Unidades formadoras de colonias de *Actinomyces sp.*

Cuando analizamos en detalle únicamente las unidades formadoras de colonias de *Actinomyces sp.*, podemos ver que el mismo exhibió una baja población en las tres regiones naturales del país, así como en los tres tipos de vegetales caracterizados (Tabla 17).

**Tabla 17:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Actinomyces sp.*

Microorganismos	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>								
<i>Actinomyces sp.</i>	0,1920122	1,0923154	0,2165116	n.d	n.d	0,2965838	0,6584211	1,1584217	0,3251453

*Actinomyces sp.* no estuvo presente en las muestras de café y banano en la Región Sierra y su mayor concentración fue de 1,1584217 log UFC.ml<sup>-1</sup> en la muestra de banano recolectada en la Amazonia. En la Región costa el mayor valor recayó en 1,0923154 log UFC.ml<sup>-1</sup> (R1M2 muestra de banano) por otro lado el valor menor fue de 0,1920122 log UFC.ml<sup>-1</sup> (R1M1 muestra de café). Todos estos resultados pueden verse esquematizados en la Figura 33.



**Figura 33:** Comparación de UFC ml<sup>-1</sup> de *Actinomyces sp.*

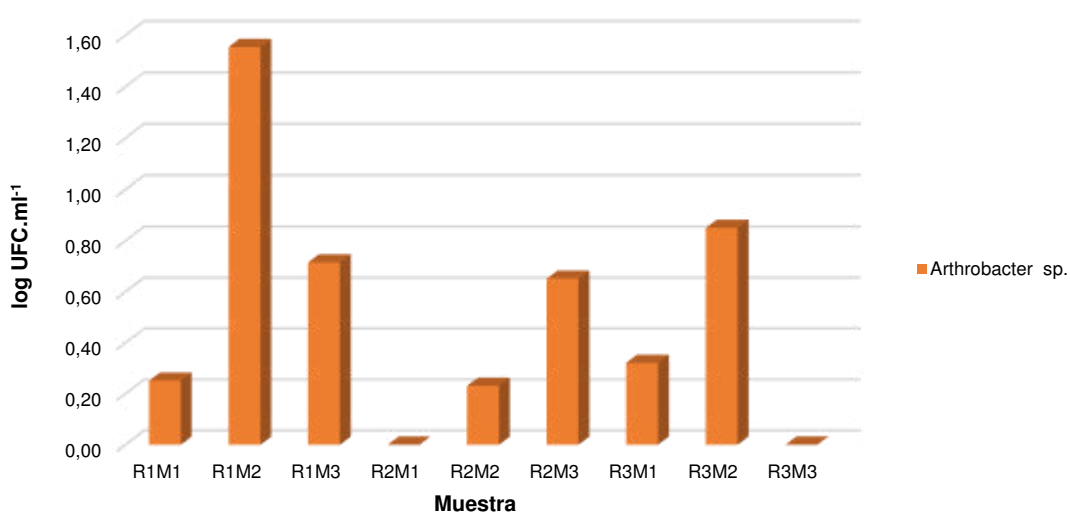
#### 4.2.3.2 Unidades formadoras de colonias de *Arthrobacter sp.*

Este Actinomiceto; *Arthrobacter sp* no exhibió poblaciones predominantes en ninguna de las locaciones geográficas de las que fue extraído y de ninguna de las muestras vegetales en cuestión (Tabla 18)

**Tabla 18:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Arthrobacter sp.*

Microorganismos	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.m <sup>-1</sup>								
<i>Arthrobacter sp.</i>	0,2517845	1,5546265	0,7154513	n.d	0,2314735	0,6521548	0,3214241	0,8513147	n.d

No se pudo confirmar su presencia en la muestra de café R2M1 procedente de la Región Sierra tampoco en la muestra de limón R3M2 de la Región Amazonia y en lo que respecta la Región Sierra su mayor cantidad de unidades formadoras de colonias se registró en la muestra de banano R1M2 con 1,5546265 log UFC.ml<sup>-1</sup> (Figura 34).



**Figura 34:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Arthrobacter sp.*

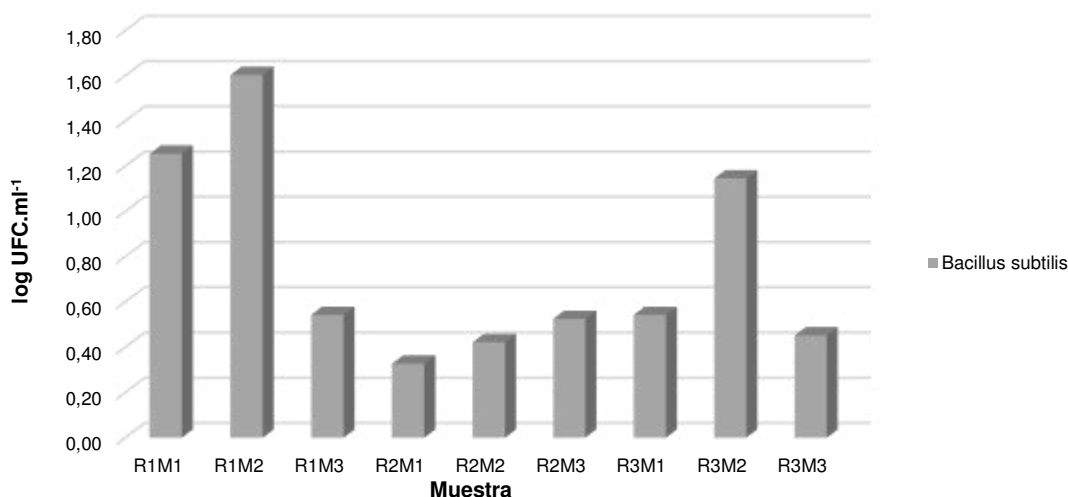
#### 4.2.3.3 Unidades formadoras de colonias de *Bacillus subtilis*.

En el análisis de los resultados de los *Bacillus* concretamente con *Bacillus subtilis* (Tabla 19) es evidente el incremento de las concentraciones de UFC.ml<sup>-1</sup> con respecto a los actinomicetos, por lo menos ya no existe ausencia en ninguna de las regiones naturales.

**Tabla 19:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Bacillus subtilis*.

Microorganismos	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>								
<i>Bacillus subtilis</i>	1,2547283	1,6032468	0,5421341	0,3265475	0,4215487	0,5241274	0,5421534	1,1452144	0,4517075

La concentración más baja se presentó en la Región Sierra en la muestra de café R2M2 con 0,3265475 log UFC.ml<sup>-1</sup> contrarrestando a la Región Costa donde se evidencio la mayor población microbiana de *Bacillus subtilis* con 1,603246 log UFC.ml<sup>-1</sup> en la muestra de banano R1M2 (Figura 35).



**Figura 35:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Bacillus subtilis*.

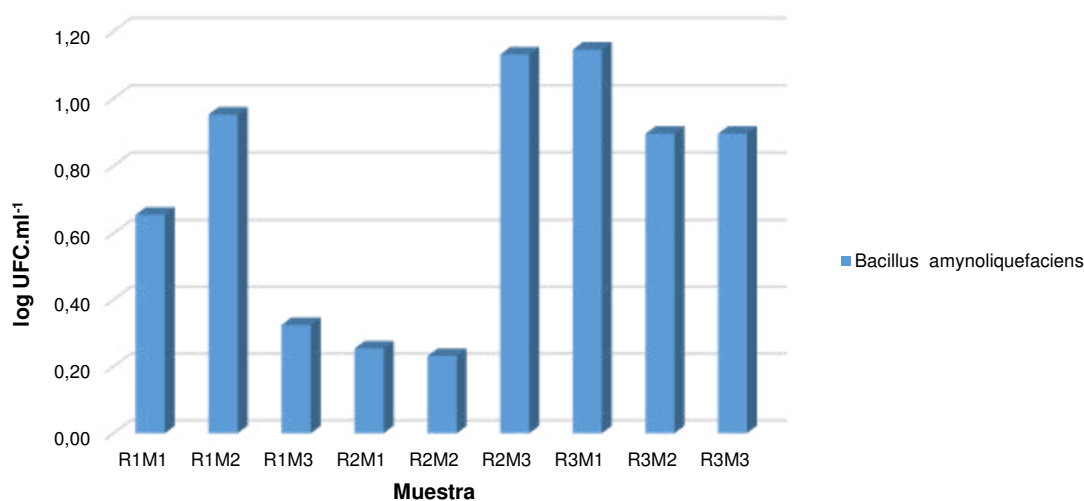
#### 4.2.3.4 Unidades formadoras de colonias de *Bacillus amynoliquefaciens*.

En el caso de *Bacillus amynoliquefaciens* en ninguna de las regiones naturales del país, de las tres muestras vegetales recolectadas de la filósfera vegetal la población expresada como log UFC.ml<sup>-1</sup> fue mayor a 1,1451758 (Tabla 20).

**Tabla 20:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Bacillus amynoliquefaciens*.

Microorganismos	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.m <sup>-1</sup>								
<i>Bacillus amynoliquefaciens</i>	0,6548815	0,9520165	0,3245798	0,2542101	0,2315486	1,1305621	1,1451758	0,8951234	0,8954751

La Región con las mayores concentraciones fue la Amazonia donde el café R2M3 obtuvo 1,1305621 UFC.ml<sup>-1</sup>. En la Región Sierra se constató la menor concentración en la muestra de banano R2M2 con 0,2315486 UFC.ml<sup>-1</sup>, finalmente en la Región Costa la menor población logarítmica para unidades formadoras de colonias fue en el limón R1M3 con 0,3245798 UFC.ml<sup>-1</sup>, mientras que la más representativa de café R1M1 con 0,6548815 UFC ml<sup>-1</sup>.



**Figura 36:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Bacillus amynoliquefaciens*.

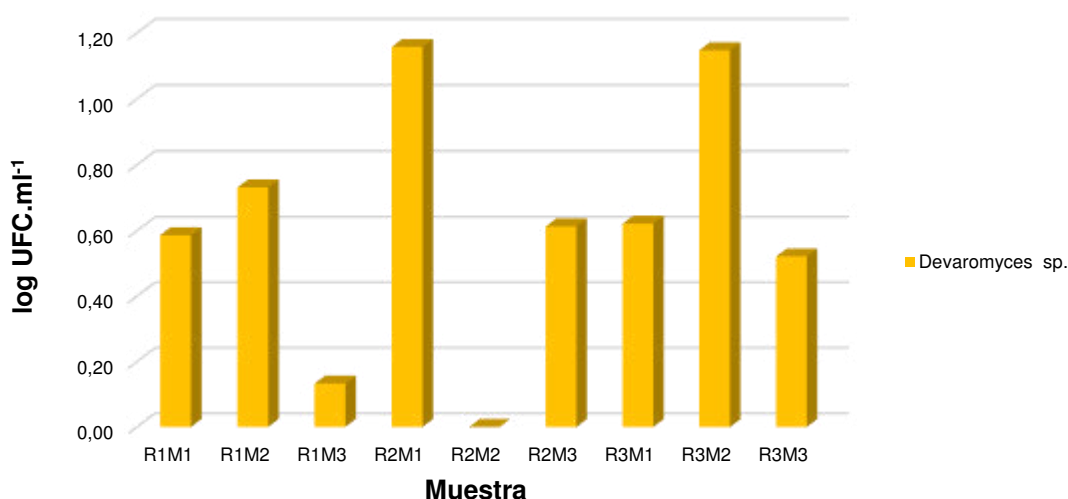
#### 4.2.3.5 Unidades formadoras de colonias de *Devaromyces sp.*

De acuerdo al tipo de muestra y Región de donde fue recolectada quien presentó mayor presencia de unidades formadoras de colonias de *Devaromyces sp.*, fue la muestra R2M1 perteneciente a la planta de café tomada de la Región Sierra seguido de la muestra R3M2 obtenida de la planta de banano en la Región Amazónica sin embargo no se constató su presencia en la muestra R2M2 perteneciente al banano recolectado en la Amazonía (Tabla 21).

**Tabla 21:** Resultados de UFC ml<sup>-1</sup> de *Devaromyces sp.*

Microorganismos	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.m <sup>-1</sup>								
<i>Devaromyces sp.</i>	0,5862142	0,7314248	0,1324754	1,1574584	n.d	0,6132472	0,6215482	1,1475132	0,5214378

*Devaromyces sp.*, quizá es el representante de esta categoría microbiana con menor presencia en todas las muestras recolectadas en las tres regiones (Figura 37). En la sierra concretamente en café R2M1 se presentan la mayor concentración 1,1574584 log UFC.ml<sup>-1</sup>, sin embargo en la muestra de banano de la misma Región no se determinaron UFC.ml<sup>-1</sup>. En la Región Costa se detectó esta especie en todas las muestras aunque en la muestra de limón R1M3 únicamente se consolidó con 0,1324754 log UFC.ml<sup>-1</sup> siendo ligeramente rebasado por el banano con 0,7314248 log UFC.ml<sup>-1</sup>. En la Amazonia se localizó la mayor población de esta *Saccharomycetaceae* en el banano R3M2 (1,1475132 log UFC.ml<sup>-1</sup>), relegando al limón R3M3 como la población más pobre de las muestras analizadas de esta Región con solo 0,5214378 log UFC.ml<sup>-1</sup>.



**Figura 37:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Devaromyces sp.*

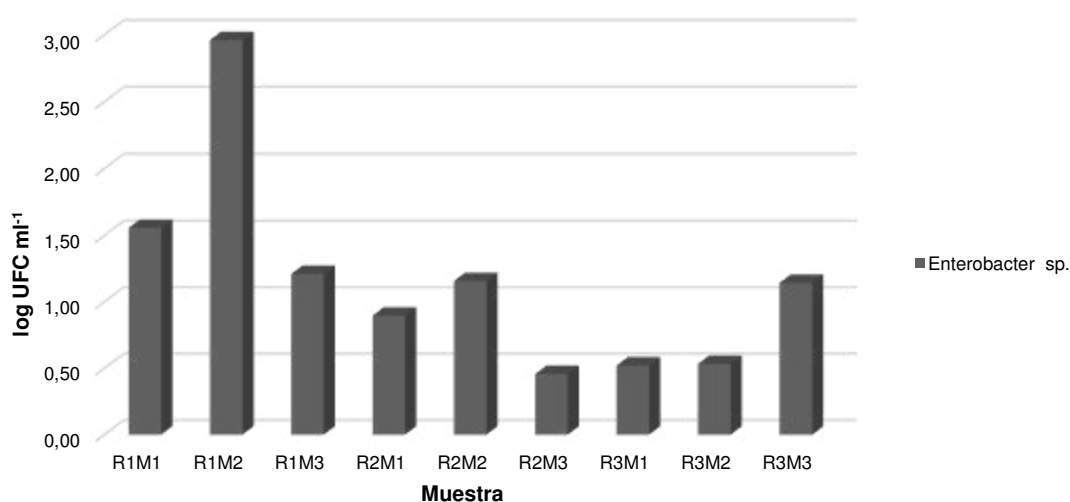
#### 4.2.3.6 Unidades formadoras colonias de *Enterobacter sp.*

Tal y como se observa en la Tabla 22, la presencia de esta *Enterobacteriaceae* es moderada en términos logarítmicos de UFC.

**Tabla 22:** Resultados de UFC de *Enterobacter sp.*

Microorganismos	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFCm <sup>-1</sup>								
<i>Enterobacter sp.</i>	1,5562448	2,9598478	1,2102154	0,8958748	1,1562129	0,4574515	0,5214575	0,5321456	1,1425414

La Región Costa alberga las mayores unidades formadoras de colonias sobre todo la muestra preparada a base de banano R1M3 con 2,9598478 log UFC.ml<sup>-1</sup> seguido del limón con una población menos significativa de tan solo 1,2102154 log UFC.ml<sup>-1</sup>. La Región Amazónica pese a su condición tropical es la Región con menor presencia de esta bacteria oportunista que combinada con rizobacterias (PGPR) puede acelerar el crecimiento vegetal, de tal suerte que el limón R3M3 puede ostentar una media de 1,1425414 UFC.ml<sup>-1</sup> no así el banano R3M2 que no logra pasar de 0,5321456 UFC.ml<sup>-1</sup> (Figura 38).



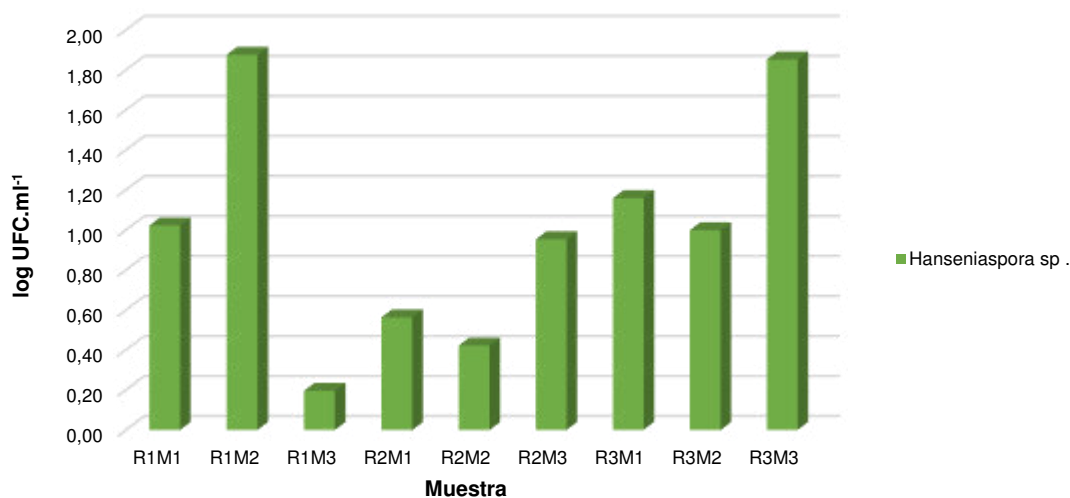
**Figura 38:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Enterobacter sp.*

#### 4.2.3.7 Unidades formadoras de colonias de *Hanseniaspora sp.*

**Tabla 23:** Resultados de UFC ml<sup>-1</sup> de *Hanseniaspora sp.*

Microorganismo	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.m <sup>-1</sup>								
<i>Hanseniaspora sp.</i>	1,0215484	1,8754674	0,1956514	0,5621484	0,4215485	0,9530147	1,1584791	0,9985621	1,8512455

En la Región Sierra (locación con menor presencia de esta levadura) el limón R2M3 fue el vegetal con mayor concentración de *Hanseniaspora sp.*, con 0,9530147 log UFC.ml<sup>-1</sup>, adjudicando al banano R2M2 como el menos poblado en su zona con 0,4215485 log UFC.ml<sup>-1</sup>. La Costa sobre todo con el banano R1M2 llego a presentar un valor de 1,8754674 UFC.ml<sup>-1</sup> para *Hanseniaspora sp.*, mientras que el limón R1M3 0,1956514 log UFC.ml<sup>-1</sup> representa la concentración más bajo alcanzado por este microorganismo dentro de todo el estudio (Figura 39).



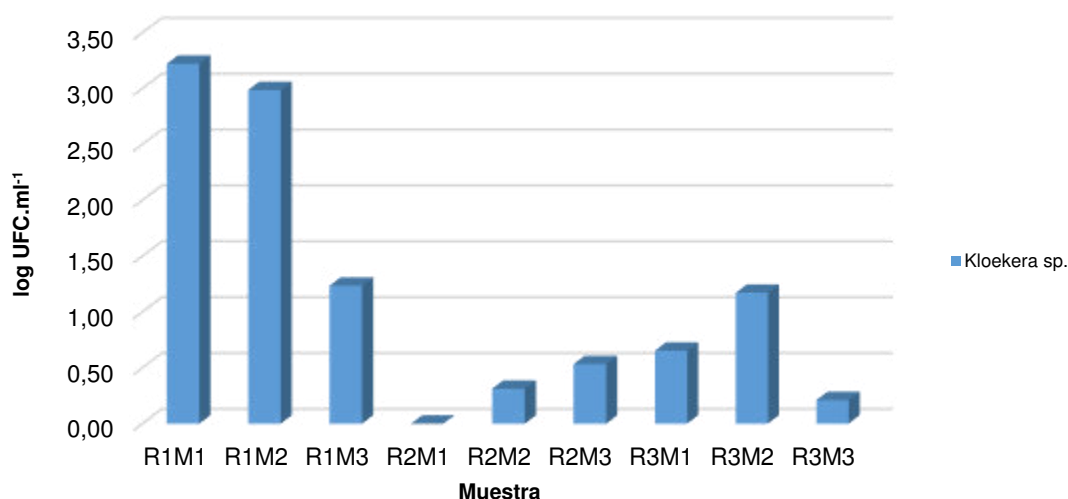
**Figura 39:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Hanseniaspora sp.*

#### 4.2.3.8 Unidades formadoras colonias de *Kloekera sp.*

Cuando analizamos el caso de la levadura indígena *Kloekera* vemos ausencia en la Región interandina o Sierra para la muestra de café R2M1 en contraste con un valor elevado de 3,2211544 log UFC.ml<sup>-1</sup> en la Costa en el mismo vegetal que de por si se constituye como la población más abundante de este microorganismo de entre todas las regiones. En la Amazonia los valores son medianamente bajos siendo la muestra de banano la más prominente con 1,1713245 log UFC.ml<sup>-1</sup> frente a la muestra de limón, con tan solo 0,2108627 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Todos los datos pueden verse en la Tabla 24 y Figura 40.

**Tabla 24:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Kloekera sp.*

Microorganismo	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>								
<i>Kloekera sp.</i>	3,2211544	2,9854089	1,2345451	n.d	0,3121465	0,5321556	0,6521474	1,1713245	0,2108627



**Figura 40:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Kloekera sp.*

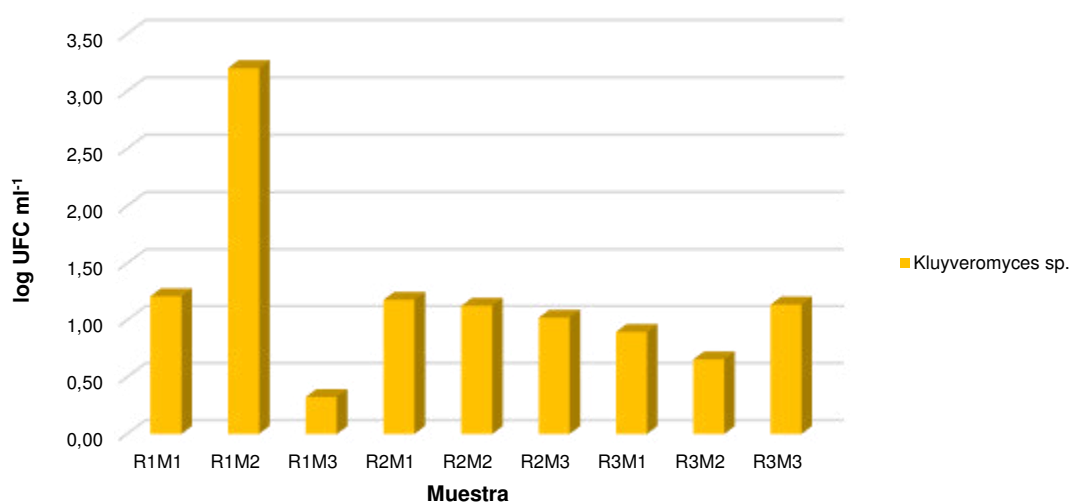
#### 4.2.3.9 Unidades formadoras de colonias de *Kluyveromyces sp.*

Las levaduras son sin duda alguna los microorganismos más abundantes registrados durante el curso de esta investigación sumándose a este listado *Kluyveromyces sp.* (Tabla 25).

**Tabla 25:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Kluyveromyces sp.*

Microorganismo	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>								
<i>Kluyveromyces sp.</i>	1,2081205	3,2016411	0,3244157	1,1784205	1,1251547	1,0210478	0,8945751	0,6542153	1,1359212

La Región Amazónica presentó una baja población de esta levadura colocando al café R3M1 como la muestra menos prominente con tan solo 0,8945751 log UFC.ml<sup>-1</sup> y al limón R3M3 con 1,1359212 log UFC.ml<sup>-1</sup>. La Región costanera, como hemos visto en muchos de los casos anteriores dado su carácter tropical tiende a concentrar las mayores poblaciones microbiológicas de tal suerte que con *Kluyveromyces spp* la muestra de banano R1M2 presentó una concentración de 3,2016411 log UFC.ml<sup>-1</sup> comparada con el limón que escasamente contiene 0,3244157 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Todos los datos expuestos anteriormente están claramente expuestos en la (Figura 41).



**Figura 41:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Kluyveromyces sp.*

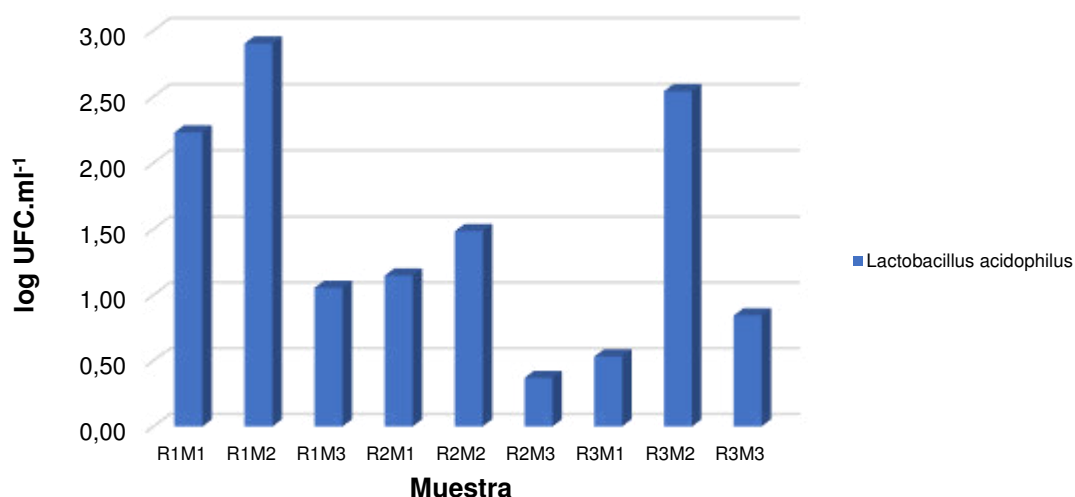
#### 4.2.3.10 Unidades formadoras de colonias de *Lactobacillus acidophilus*.

Al empezar el análisis de las bacterias del ácido lácticas salta en escena inmediatamente *Lactobacillus acidophilus*,

**Tabla 26:** Resultados de UFC ml<sup>-1</sup> de *Lactobacillus acidophilus*.

Microorganismo	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>								
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2,2315454	2,9019878	1,0546844	1,1475485	1,4851775	0,3695124	0,5321424	2,5421467	0,8451474

En la Región Costa se acumularon las mayores poblaciones de *Lactobacillus acidophilus* con 2,9019878 log UFC.ml<sup>-1</sup> dejando relegado al limon como el vegetal menos poblado por esta bacteria ácido láctica (1,0546844 log UFC.ml<sup>-1</sup>). La Región Sierra pasa a ser la Región que obtuvo los menores valores de unidades formadoras de colonias expresadas en UFC ml<sup>-1</sup> haciéndose este hecho evidente en el limón R2M3 con 0,3695124 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Teniendo presente finalmente a la Región Amazónica en la cual la población microbiana filosférica concentrada en el banano R3M2 se mostró como el hospedero mayoritario de este bacilo con 2,5421467 log UFC.ml<sup>-1</sup>.



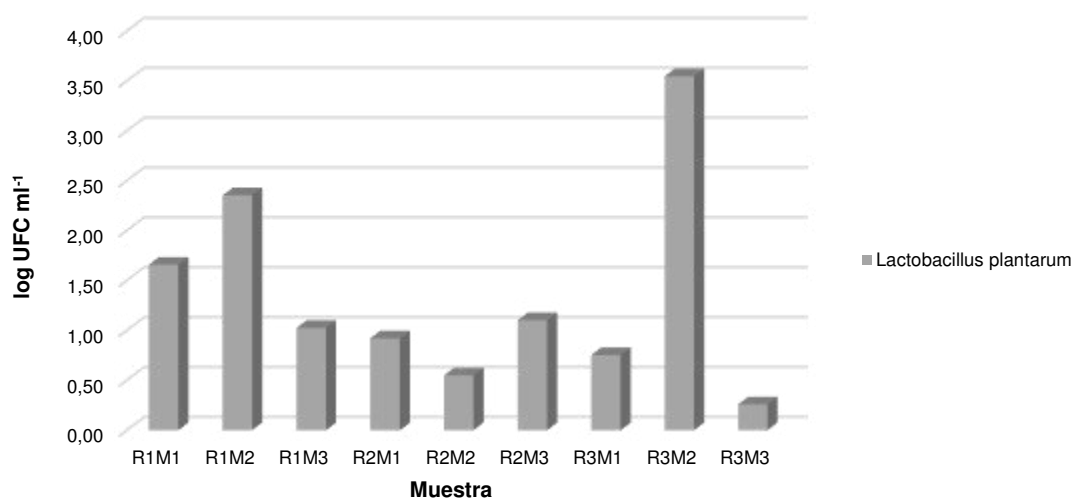
**Figura 42:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Lactobacillus acidophilus*.

#### 4.2.3.11 Unidades formadoras de colonias de *Lactobacillus plantarum*.

**Tabla 27:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Lactobacillus plantarum*.

Microorganismo	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>								
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1,6582145	2,3544678	1,0247032	0,9195684	0,5487546	1,10214	0,7514515	3,5474614	0,2584757

Existe una abundante presencia de *Lactobacillus plantarum* en la muestra recogida a partir de la filósfera del banano codificada R3M2 con 3,5474614 log UFC.ml<sup>-1</sup>, mostrando al mismo tiempo una menor cantidad en el limón 0,2584757 log UFC.ml<sup>-1</sup> (Figura 43). La Región que abarca la mayor población de esta bacteria es nuevamente la Costa con 2,3544678 log UFC.ml<sup>-1</sup> con el banano dejando por detrás al limón con tan solo 1,0247032 log UFC.ml<sup>-1</sup>. La Región interandina o Sierra se lleva los peores promedios puesto que para el banano únicamente el promedio logarítmico de sus unidades formadoras de colonias es de solo 0,5487546 dejando entre ver al limón como el mayor acumulador de este bacilo (1,10214 log UFC.ml<sup>-1</sup>). Como ya es típico en cada uno de los resultados que hemos ido revisando todos están concentrados para el presente caso en la Tabla 27.



**Figura 43:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Lactobacillus plantarum*.

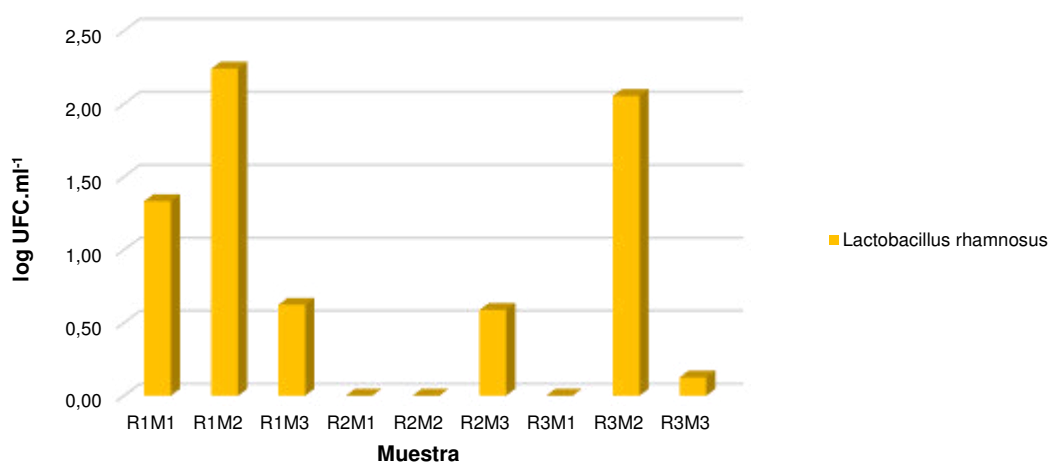
#### 4.2.3.12 Unidades formadoras de colonias de *Lactobacillus rhamnosus*.

*Lactobacillus rhamnosus* es la que ha registrado los menor concentración de unidades formadoras de colonas de tal suerte que incluso no se determinaron UFC.ml<sup>-1</sup> en 3 muestras sobre todo en la Región Sierra específicamente en las muestras extraídas a partir del café R2M1 y banano R2M2. Igualmente en la Amazonia se presentó otra ausencia de este microorganismos acido lácticos básicamente en R3M1 correspondiente a la muestra de café.

**Tabla 28:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Lactobacillus rhamnosus*.

Microorganismo	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	<b>log UFC.ml<sup>-1</sup></b>								
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1,3325148	2,2415391	0,6231845	n.d	n.d	0,5875157	n.d	2,0545846	0,1255215

En la Costa se registró la mayor diversidad de esta bacteria acido láctica sobre todo en el banano R1M2 (2,2415391 log UFC.ml<sup>-1</sup>) dejando entre ver que el limón continua siendo tendencia con el menor concentración de UFC.ml<sup>-1</sup> con 0,6231845 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Véase Figura 44.



**Figura 44:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Lactobacillus rhamnosus*.

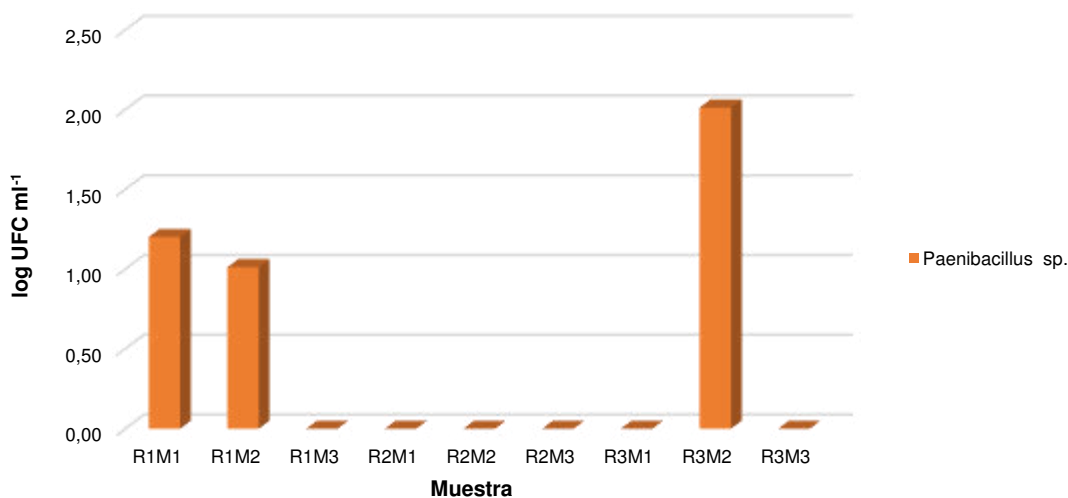
#### 4.2.3.13 Unidades formadoras de colonias de *Paenibacillus sp.*

En *Paenibacillus spp* claramente se muestra como la población microbiana con mayores ausencias en todas las regiones naturales del país y en varias muestras vegetales (Tabla 29).

**Tabla 29:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Paenibacillus sp.*

Microorganismo	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>								
<i>Paenibacillus sp.</i>	1,2016579	1,0124413	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	2,0132421	n.d

En la muestras de la Región Sierra no se observa presencia de *Paenibacillus sp.*, así por ejemplo en la muestra de limón R1M3 siendo el café R1M1 la muestra prioritaria con 1,2016579 log UFC.ml<sup>-1</sup>. La Sierra no presento unidades formadoras de colonias de esta bacteria en ninguna de las poblaciones vegetales estudiadas y finalmente la Región Amazónica el único vegetal de cuya filósfera se preparó un consorcio microbiano y pudo identificarse a este bacilo fue el banano con una concentración de 2,0132421 log UFC.ml<sup>-1</sup> (Figura 45).



**Figura 45:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Paenibacillus sp.*

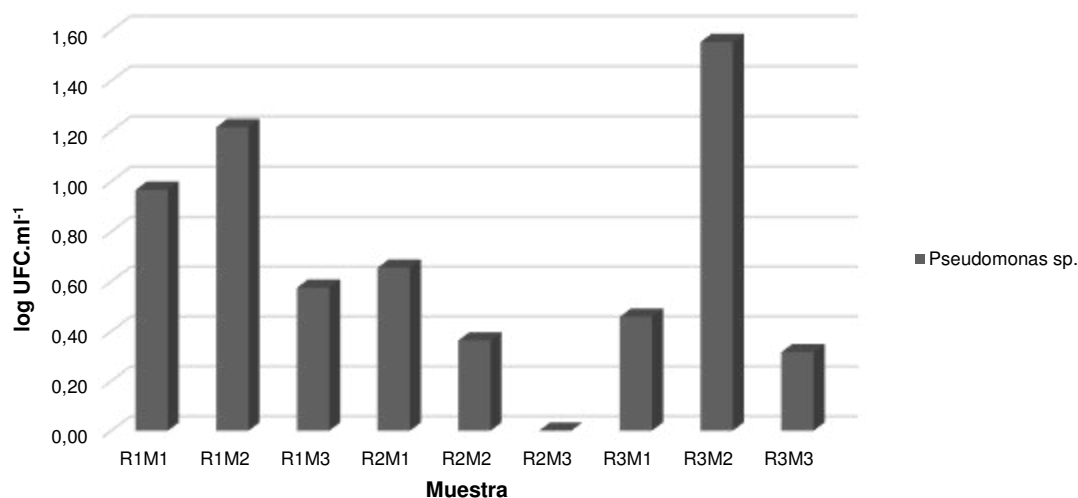
#### 4.2.3.14 Unidades formadoras de colonias de *Pseudomonas sp.*

La concentración de *Pseudomonas* en las tres regiones naturales del país es medianamente baja, acentuándose más este patrón en la Región Sierra donde se observa ausencia del género bacteriano en la muestra R2M3 correspondiente a limón (Tabla 30).

**Tabla 30:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Pseudomonas sp.*

Microorganismo	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>								
<i>Pseudomonas sp.</i>	0,9658405	1,2150154	0,5743164	0,6547419	0,3621543	n.d	0,45751321	1,5545214	0,3147821

La Región Costa se posiciona como el mayor aglomerado de vida microbiana sobre todo con el banano 1,2150154 log UFC.ml<sup>-1</sup> dejando a la muestra de limón R1M3 como la menos poblada con tan solo 0,5743164 log UFC.ml<sup>-1</sup> (Figura 48). Finalmente en la Amazonia la tendencia de bajas concentraciones se mantuvo sobre todo en la muestra de limón R3M3 (0,3147821 log UFC.ml<sup>-1</sup>) siendo ligeramente superado por el banano que presento un valor de 1,5545214 log UFC.ml<sup>-1</sup>.



**Figura 46:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Pseudomonas sp.*

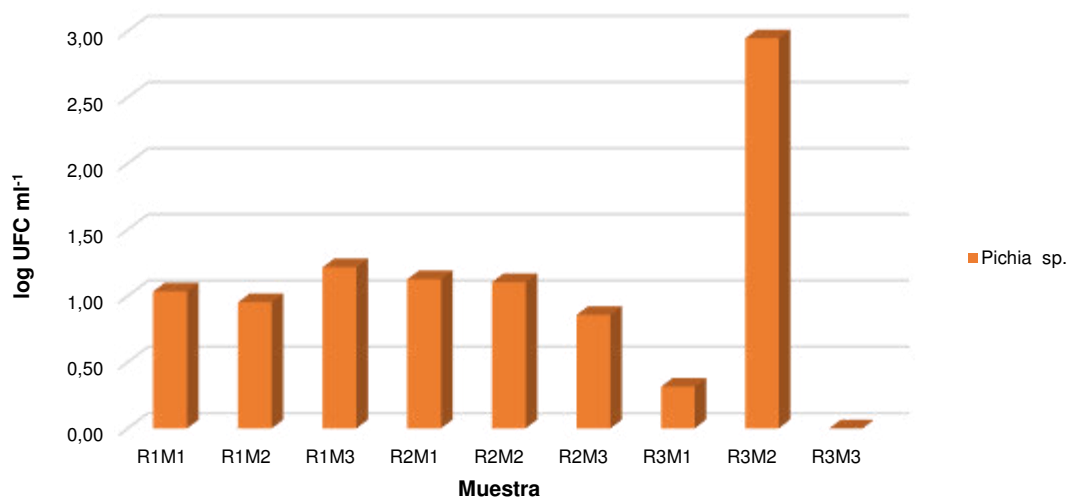
#### 4.2.3.15 Unidades formadoras de colonias de *Pichia sp.*

Finalmente ya dentro de las levaduras nos toca analizar al género *Pichia sp* que registró su mayor concentración en la Región Amazónica concretamente en la muestra de banano R3M2 2,9454989 log UFC.ml<sup>-1</sup>.

**Tabla 31:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Pichia sp.*

Microorganismo	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC ml <sup>-1</sup>								
<i>Pichia sp.</i>	1,0325458	0,9512473	1,2154348	1,12484557	1,1024521	0,8562144	0,31475137	2,9454989	n.d

La Región Sierra se consolidó como la mayor precursora en lo que respecta a la acumulación de unidades formadoras de colonias expresadas como UFC.ml<sup>-1</sup> presentando a la muestra de café R2M1 como la más poblada por las diferentes especies de *Pichia sp* (1,12484557 log UFC.ml<sup>-1</sup>). Por último en el litoral Ecuatoriano es decir la Región Costa la máxima aglutinación se hizo notoria en la muestra de limón R1M3 con 1,2154348 log UFC.ml<sup>-1</sup>, tal como se observa en la Figura 47 y se detalla en la Tabla 31.



**Figura 47:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Pichia sp.*

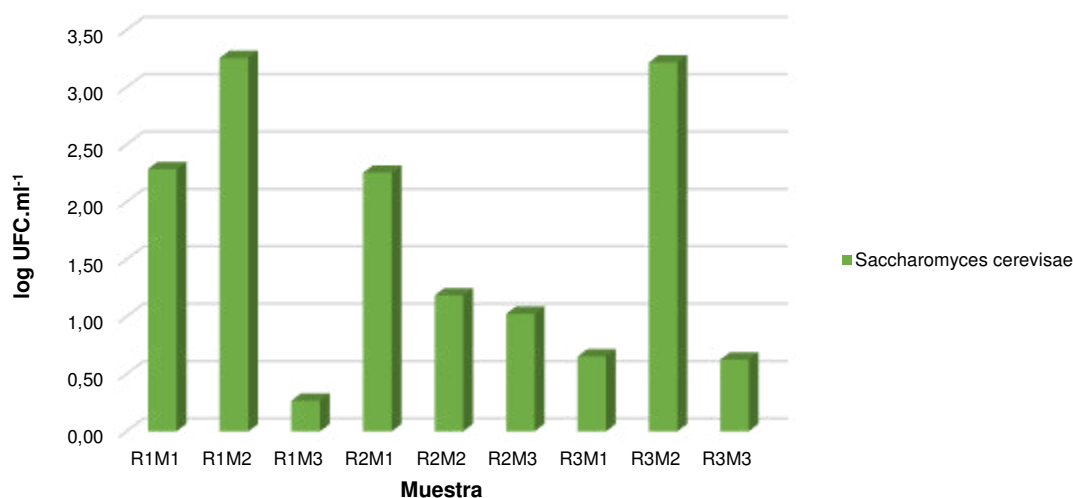
#### 4.2.3.16 Unidades formadoras de colonias de *Saccharomyces cerevisiae*.

De todas las levaduras que han sido estudiadas y analizadas en esta tesis *Saccharomyces cerevisiae* es la que presenta las mayores concentraciones de unidades formadoras de colonias siendo la Región Costa la que presenta mayor concentración sobre todo en la muestra de banano.

**Tabla 32:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Saccharomyces cerevisiae*.

Microorganismo	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>								
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,2851342	3,2547634	0,2665783	2,25481848	1,1845727	1,0245751	0,65214831	3,2156858	0,6248501

Continuando con la Región Costa R1M2 presenta la mayor concentración con 3,2547634 log UFC.ml<sup>-1</sup> pero evidenciado poca aglomeración bacteriana en el limón R1M3 (0,2665783 log UFC.ml<sup>-1</sup>). En la Región Amazónica la muestra de banano R3M2 se consolida como la mayor población de la levadura fermentadora de cerveza alcanzando una cifra de 3,2156858 log UFC.ml<sup>-1</sup> (Tabla 32 y Figura 48).



**Figura 48:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Saccharomyces cerevisiae*.

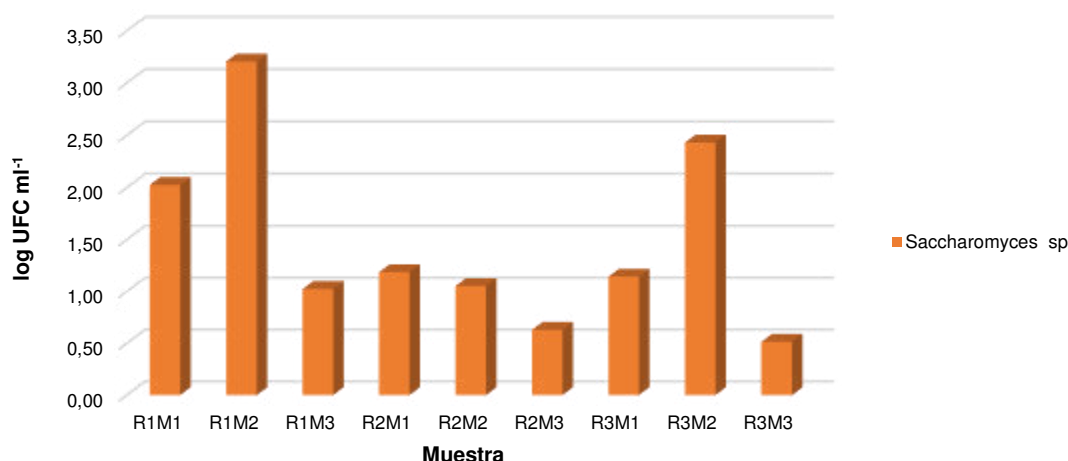
#### 4.2.3.17 Unidades formadoras de colonias de *Saccharomyces sp.*

Para concluir la investigación en el último género de levaduras tenemos a *Saccharomyces sp.*, la concentración logarítmica de unidades formadoras de colonias se reduce visiblemente frente a otras especies particulares de este tipo de microorganismos (Figura 49).

**Tabla 33:** Resultados de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Saccharomyces sp.*

Microorganismo	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3
	log UFC.ml <sup>-1</sup>								
<i>Saccharomyces sp</i>	2,0244577	3,2057958	1,0236305	1,1856473	1,0512786	0,6294876	1,14218473	2,4301578	0,5142143

Aun así se observa que la Región Costanera, en su muestra R1M2 de banano se adjudica como la mayor población de las diferentes especies de *Saccharomyces* con 3,2057958 log UFC.ml<sup>-1</sup> mientras que la muestra de limón en la Región Amazónica tan solo presenta una concentración de 0,5142143 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Finalmente la Región Sierra el café R2M1 las mayores unidades formadoras de colonias 1,1856473 log UFC.ml<sup>-1</sup> contrario a lo suscitado en la muestra de limón que nuevamente resulta ser la menos prioritaria para la concentración de las diferentes especies de *Saccharomyces sp.* (0,6294876 log UFC.ml<sup>-1</sup>).



**Figura 49:** Comparación de UFC.ml<sup>-1</sup> de *Saccharomyces sp.*

Finalmente los géneros y las especies microbianas difieren principalmente de acuerdo al vegetal en el cual pueblen su filósfera, ahora existen otros factores ambientes propios de la Región natural de donde han sido recolectados (temperatura, humedad, radiación ultra violeta, etc.) que condicionan la mayor o menor supervivencia de las colonias microbianas (Arias, 2010).

Cada uno de los microorganismos identificados cumplen una función muy importante para el desarrollo de la planta hospedera lo cual se detalla en la Tabla 34.

**Tabla 34:** Beneficios de las poblaciones microbianas a cada especie vegetal en estudio en base a las referencias de diferentes autores en estudio.

<b>Microorganismos</b>	<b>Café</b>	<b>Banano</b>	<b>Limón</b>
<i>Actinomyces sp.</i>  <i>Arthrobacter sp.</i>	Los actinomicetos una presentes en la filósfera del café contribuyen a solubilizar el fosforo insoluble mediante la producción de ácidos orgánicos, fosfatasas y quelasas.	Síntesis de una gran cantidad de bioactivos capaces de controlar el crecimiento de fitopatógenos propios del banano.	Biodegradación de compuestos tóxicos provenientes de actividades antropogénicas en el limon (Franco-Correa, 2015)
<i>Bacillus subtilis</i>  <i>Bacillus amynoliquefaciens</i>  <i>Paenibacillus sp.</i>	Brinda protección contra patógenos propios del café como la broca <i>Hypothenemus hampei</i> .	Liberación controlada de biocoloides microbianos que encapsulan productos metabólicos nocivos del medio endosférico (Gotteland & de Pablo V, 2007b).	Fijación biológica de nitrógeno (FBN) por medio de asociación con rizobacterias.
<i>Devaromyces sp.</i> <i>Hanseniaspora sp.</i> <i>Kloeckera sp.</i> <i>Kluyveromyces sp.</i>	Contribuyen en la biocatilisis enzimática y en diferentes rutas bioquímicas del café como la del piruvato.	Ayudan a activar cofactores digestivos en el metabolismo del vegetal	Formación de ácidos orgánicos de alto peso molecular y fermentación de azúcares reductores (Castro, 2015).
<i>Enterobacter sp.</i>	Las Enterobacterias en el café son capaces de generar proteínas estructurales como las subtilinas (Gotteland & de Pablo V, 2007a)	Inhibidores del crecimiento de células fúngicas que afectan las raíces del banano	Ayudan a la liberación de factores enzimáticos que conducen a importantes rutas de degradación de exudados tóxicos del metabolismo vegetal.
<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Generan antibióticos de carácter fungicida para luchar que permite al café luchar contra hongos patógenos (Mazinani et al., 2017a)	Los Lactobacillus pueden llegar a intervenir en la degradación de azúcares reductores en las partes aéreas del banano (Castro, 2015).	Los Lactobacillus mantienen siempre una elevada producción de quelatos minerales sobre todo de hierro.
<i>Pseudomonas sp.</i>	Trabajan en la producción de grupos sideróforos simples que ayudan a mantener niveles estables de Fe 3+.	Participan en la secreción de enzimas que condicionan directamente el metabolismo de los alcoholes en el banano.	De acuerdo a Villanueva (2007), las Pseudomonas coadyuvan a la síntesis de enzimas que incrementan el contenido de materia orgánica
<i>Pichia sp.</i>  <i>Saccharomyces cerevisiae</i>  <i>Saccharomyces sp.</i>	Al incrementar el contenido de biomasa estas levaduras pueden promover crecimiento de raíces y nódulos radicales del vegetal.	Estas levaduras son capaces de incrementar el potencial de movilidad de elementos como Cu, Ni y Zn a lo largo de las partes aéreas del banano.	Las propiedades simbióticas del limon se ven visiblemente aumentadas como la fijación del nitrógeno y la recaptura del fosforo sumado a un incremento de la nodulación en la rizosfera (Bhattacharya (2016).

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES

**1. Todas las tres especies vegetales provenientes de las tres regiones naturales del país presentaron una elevada concentración de microorganismos benéficos en su filósfera donde destacan seis generos microbianos plenamente definidos: Levaduras, *Bacillus*, *Lactobacillus*, Actinomicetos, *Pseudomonas* y Enterobacterias.**

- La planta de café (*Coffea arábica*) procedente de las tres regiones naturales del Ecuador presento una elevada población de levaduras con un promedio de 1,011 log UFC.ml<sup>-1</sup>.
- (*Musa paradisiaca*) procedente de las tres regiones naturales del Ecuador presento una mayor diversidad en lo que respecta a sus consorcios microbianos de bacterias acido lácticas por sobre otros organismos con un promedio de 1,9640 log UFC.ml<sup>-1</sup>.
- La planta de limón (*Citrus limón*) procedente de las tres regiones naturales del Ecuador presento al igual que el banano una elevada población de bacterias acido lácticas, particularmente de *Bacillus acidophilus*, expresadas como unidades formadoras de colonias por sobre otros organismos con un promedio de 0,6656 log UFC.ml<sup>-1</sup>

**2. La población microbiana presentes en la filósfera de los tres vegetales recolectados en las tres regiones naturales del Ecuador está relacionada directamente a las propiedades fitoquímicas de la planta, presentando poca influencia la Región natural de la cual fueron recolectadas, pero en general todos los grupos microbianos fueron generales a los tres vegetales en todas las locaciones estudiadas.**

- Dentro del grupo de las levaduras se concentraron microorganismos como *Devaromyces* spp, *Hanseniaspora* spp, *Kloekera* spp, *Kluyveromyces* spp, *Pichia* spp, *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces* spp.
- *Actinomyces* spp y *Arthrobacter* spp fueron los representantes de los Actinomicetos.
- *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus* spp y *Bacillus amynoliquefaciens*, estuvieron englobados dentro de los *Bacillus*.

- *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus* fueron los tres grandes líderes de las bacterias del ácido láctico.
- Diferentes especies de *Pseudomonas sp* la filósfera de las tres especies vegetales estudiadas siendo representativos por sobre otros géneros identificados.
- *Enterobacter spp* también estuvo presente dentro de los consorcios microbianos filosféricos de los tres vegetales (café, banano y limón) procedentes de las tres regiones naturales del Ecuador.
- En las regiones naturales Costa y Sierra el consorcio microbiano predominante fue las levaduras situación que se tornó distinta en la Amazonia donde hubo un incremento despunte de las bacterias del ácido láctico, ocasionado por la mayor presencia de estos organismos en las muestras de limón.

## CAPÍTULO VI

### 6. RECOMENDACIONES

1. El efecto de los consorcios microbianos benéficos debería ser probado en base a pruebas de laboratorio sobre plagas y enfermedades que afecten a los tres tipos de vegetales como es el caso del café se incluye a *Hypothenemus hampei* (broca del café), para el banano *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka) y finalmente en el limón (*Alternaria spp*).
2. Promover la inoculación de los consorcios microbianos elaborados a partir de las tres muestras vegetales en diferentes especies cultivables enfocados a incrementar la productividad y el rendimiento agronómico.
3. Incentivar un mayor número de estudios la sobre identificación y caracterización de microorganismos benéficos en la filósfera de otros cultivos, valorando verdaderamente si la Región natural de la que provienen incide directamente en las concentraciones de unidades formadoras de colonias de microorganismos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez, M. (2018). *Caracterización de microorganismos benéficos provenientes de tres pisos altitudinales de Azuay - Ecuador y su influencia en el cultivo de fresa*. UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA. Retrieved from <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3097>
- Alvarez, M., Tucta, F., Quispe, E., & Meza, V. (2018). Incidencia de la inoculación de microorganismos benéficos en el cultivo de fresa ( *Fragaria sp.* ) Incidence of the inoculation of beneficial microorganisms in the strawberry ( *Fragaria sp.* ) crop, *9*(1), 33–42. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.04>
- Aquihuatl, Volque, Prado, R. (2012). Aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus* spp. con actividad contra *Tetranychus urticae* Koch en cultivos comerciales de rosas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *17*(2), 140–148. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v17n2.54291>
- Arias, A. (2010). Microorganismos Eficientes Y Su Beneficio Para La Agricultura Y El Medio Ambiente. *Journal De Ciencia E Ingeniería*, *02*(02), 42–45pp. Retrieved from <http://jci.uniautonoma.edu.co/2010/2010-7.pdf>
- Barakat, M. A. (2011). New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian Journal of Chemistry*, *4*(4), 361–377. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.07.019>
- Bermúdez Camacho Carlos Manuel. (2016). *Propiedades funcionales del plátano (Musa sp)*. Centro Agrícola (Vol. 43). Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Central de las Villas. Retrieved from [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-57852016000300006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852016000300006)
- Capa Benítez, L. B., Alaña Castillo, T. P., & Benítez Narváez, R. M. (2016). IMPORTANCIA DE LA PRODUCCIÓN DE BANANO ORGÁNICO.: CASO: PROVINCIA EL ORO, ECUADOR. *Revista Universidad y Sociedad*, *8*(3), 64–71. Retrieved from [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2218-36202016000300008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202016000300008)
- Castro, B. (2015). *Uso de la cáscara de banano (Musa paradisiaca) maduro deshidratada (seca) como proceso de bioadsorción para la retención de metales pesados, plomo y cromo en aguas contaminadas*. Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Cervantes, C., & Sánchez Moreno, R. (1999). *Contaminación ambiental por metales pesados: Impacto en los seres vivos*. Mexico, D.F.: Instituto Nacional de Cardiología, Departamento de Bioquímica.
- Chaudhary, D., Kumar, R., Sihag, K., . R., & Kumari, A. (2017). Phyllospheric microflora and its impact on plant growth: A review. *Agricultural Reviews*, *38*(OF), 51–59. <https://doi.org/10.18805/ag.v0iOF.7308>
- Cortés. (2004). *Introducción a la Microbiología*. Retrieved from <http://www.unacar.mx/contenido/gaceta/ediciones/contenido2.pdf>
- Cuervo, L., Folch, J. L., & Quiroz, R. E. (2009). Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol . *Instituto de Biotecnología, UNAM*, *13*(3), 11–25.

- Franco-Correa, M. (2015). *Utilización de los actinomicetos en procesos de biofertilización Use of actinomycetes in processes biofertilization*.
- Fu, F., & Wang, Q. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *Journal of Environmental Management*, 92(3), 407–418. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.11.011>
- García-Fraile, P., Menéndez, E., & Rivas, R. (2015). Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *AIMS Bioengineering*, 2(3), 183–205. <https://doi.org/10.3934/bioeng.2015.3.183>
- Gotteland, M., & de Pablo V, S. (2007a). ALGUNAS VERDADES SOBRE EL CAFÉ. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(2), 105–115. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182007000200002>
- Gotteland, M., & de Pablo V, S. (2007b). ALGUNAS VERDADES SOBRE EL CAFÉ. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(2), 105–115. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182007000200002>
- Gupta, S., & Babu, B. V. (2009). Removal of toxic metal Cr(VI) from aqueous solutions using sawdust as adsorbent: Equilibrium, kinetics and regeneration studies. *Chemical Engineering Journal*, 150(2), 352–365. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.01.013>
- Iberdrola Ingeniería. (2014). Aprovechamiento de microalgas para una nueva biocidad autosuficiente, 2. Retrieved from <http://www.residuosprofesional.com/aprovechamiento-de-microalgas-para-una-nueva-biocidad-autosuficiente-y-sostenible/>
- Jordán, M., & Casaretto, J. (2006). Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas. *Fisiología Vegetal*, 15(XV), 1–28. <https://doi.org/v150806>
- Madigan, D., Stang, P. E., Berlin, J. A., Schuemie, M., Overhage, J. M., Suchard, M. A., ... Ryan, P. B. (2004). Biología de los Microorganismos. *Annual Review of Statistics and Its Application*, 1, 11–39. <https://doi.org/10.1146/annurev-statistics-022513-115645>
- Marcel, B. (2007). ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción “. *ACTION BIOSCIENCE*. Retrieved from <http://www.actionbioscience.org/esp/biodiversidad/wassenaar.html#primer>
- Mazinani, Z., Zamani, M., & Sardari, S. (2017a). Aislamiento e identificación de bacterias Phyllospheric Poseer Actividad antimicrobiana de obtusifolius astrágalo , Prosopis juliflora , strumarium xanthium y Hippocrepis unisiliqousa, 9(1), 31–37.
- Mazinani, Z., Zamani, M., & Sardari, S. (2017b). Isolation and identification of phyllospheric bacteria possessing antimicrobial activity from Astragalus obtusifolius, Prosopis juliflora, Xanthium strumarium and Hippocrepis unisiliqousa. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 9(1), 31–37.
- Ngah, W. S. W., & Hanafiah, M. A. K. M. (2007). Removal of heavy metal ions from wastewater by chemically modified plant wastes as adsorbents: A review. *Bioresource Technology*, 99. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.011>
- Rafatullah, M., Sulaiman, O., Hashim, R., & Ahmad, A. (2010). Adsorption of methylene blue on low-cost adsorbents: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 177(1), 70–80. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.12.047>

- Raize, O., Argaman, Y., & Yannai, S. (2004). Mechanisms of biosorption of different heavy metals by brown marine macroalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 87(4), 451–458. <https://doi.org/10.1002/bit.20136>
- Reisberg, E. E., Hildebrandt, U., Riederer, M., & Hentschel, U. (2012). Phyllosphere bacterial communities of trichome-bearing and trichomeless *Arabidopsis thaliana* leaves. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 101(3), 551–560. <https://doi.org/10.1007/s10482-011-9669-8>
- Singh, D., Geat, N., Rajawat, M. V. S., Prasanna, R., Kaushik, R., & Saxena, A. K. (2017). Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Endophytic Diazotrophic Bacteria from Wheat Genotypes and their Influence on Plant Growth Promotion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 1533–1540. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.604.188>
- Singh, V. M., Maurya, B. R., Verma, J. P., & Meena, R. S. (2016). *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*. Editorial Springer India. Retrieved from <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-81-322-2776-2>
- Souza, R. de, Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, 38(4), 401–419. <https://doi.org/10.1590/S1415-475738420150053>
- Tchobanoglous, G., Stensel, H. D., Tsuchihashi, R., Burton, F. L. (Franklin L., Abu-Orf, M., Bowden, G., & Pfrang, W. (2003). *Wastewater engineering: treatment and resource recovery*. (McGraw-Hill Education, Ed.) (5th ed.).
- Tejada Tovar, C., Villabona Ortiz, Á., & Garcés Jaraba, L. (2014). Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. *Tecnológicas*, 18 No. 34(34), 109–123.
- Trabelsi, D., Mhamdi, R., Trabelsi, D., & Mhamdi, R. (2013). Microbial Inoculants and Their Impact on Soil Microbial Communities: A Review. *BioMed Research International*, 2013, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2013/863240>
- Villamar, V., -Autor, H., Hugo -Autor, V., Peralta, O., -Compilador, P., Belén -Compilador, M., ... -Autor, F. (2004). *Introducción al desarrollo local sustentable Titulo*. Retrieved from [www.clacso.edu.ar](http://www.clacso.edu.ar)
- Villanueva, C. C. (2006). *Biosorción de Cobre (II) por biomasa pretratada de cáscara de Citrus Sinensis (naranja), Citrus Limonium (limón) y Opuntia Ficus (palmeta de nopal)*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Villanueva, C. C. (2007). *Biosorción de Cobre (II) por biomasa pretratada de cáscara de citrus sinensis (naranja), citrus limonium (limón) y opuntia ficus (palmeta de nopal)*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 74.
- Wagi, S., & Ahmed, A. (2017). Phyllospheric Plant Growth Promoting Bacteria, 5(1), 5–6. <https://doi.org/10.15406/jbmoa.2017.05.00119>
- Wang, J., & Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances*, 27(2), 195–226. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.002>
- Whipps, J. M., Hand, P., Pink, D., & Bending, G. D. (2008). Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. *Journal of Applied Microbiology*, 105(6), 1744–1755. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03906.x>

- Yadav, A. N., Verma, P., Kour, D., Rana, K. L., Kumar, V., & Singh, B. (2017). Plant microbiomes and its beneficial multifunctional plant growth promoting attributes Plant Microbiomes and Its Beneficial Multifunctional Plant Growth Promoting Attributes. *In*, 3(May). <https://doi.org/10.19080/IJESNR.2017.03.555601>
- Zhou, Q., Li, K., Jun, X., & Bo, L. (2009). Role and functions of beneficial microorganisms in sustainable aquaculture. *Bioresource Technology*, 100(16), 3780–3786. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.037>

## ANEXOS

**Anexo 1:** Fotografías de recolección de muestras.



Anexo 2: Tabla de resultados de caracterización de microorganismos benéficos proporcionados por el laboratorio.



MICROORGANISMOS	R1M1	R1M2	R1M3	R2M1	R2M2	R2M3	R3M1	R3M2	R3M3	OBSERVACIONES GENERALES
	log UFC m-1									
<i>Actinomyces</i> sp.	0,1920122	1,0823154	0,2165116	n.d.	n.d.	0,2965838	0,6982111	1,1584217	0,3251463	alta expresion de antibioticos fungicidas. Destrota lignina, celulosa, asociados con exudados humicos altos en contenido materia organica
<i>Arthrobacter</i> sp.	0,2517345	1,5546265	0,7154513	n.d.	0,2314735	0,6521548	0,3214241	0,8513147	n.d.	inhibidor de celulas fungales, aparece como contaminante de sustrato. No obstante depende de las concentraciones de materia organica. Al parecer ensambla antibioticos.
<i>Bacillus subtilis</i>	1,2547283	1,6032469	0,9421341	0,3085475	0,4215467	0,5241274	0,9421534	1,1452144	0,4517075	expresa metabolitos polihidroxicarboxatos, altas concentraciones de glutatión. Precursor de compuestos vitamínicos.
<i>Bacillus amyloqueliciens</i>	0,6548915	0,9520165	0,3245736	0,2542101	0,2315486	1,1305621	1,1451738	0,8511234	0,854751	produce biocoloides microbianos, los cuales elevan la viscosidad del medi y actuan como encapsuladores de productos metabolicos del medio.
<i>Deinomyces</i> sp.	0,5862142	0,7314248	0,1324754	1,1574584	n.d.	0,6132472	0,6215482	1,1475132	0,5214378	biocatalitica proteico enzimatica, produce inulina, acido piruvico.
<i>Enterobacter</i> sp.	1,5562448	2,859479	1,2102154	0,859748	1,1962129	0,4574515	0,5214575	0,5321456	1,1428414	evidencia de produccion de subtilinas, enzimas digestivas, cofactores vitamínicos.
<i>Hanseniaspora</i> sp.	1,0215484	1,8754674	0,1966514	0,5621484	0,4215485	0,9330147	1,1584791	0,5955621	1,8512455	forma acidos organicos, alta actividad fermentativa
<i>Wickeria</i> sp.	0,2211544	2,8654889	1,2345451	n.d.	0,3121485	0,5321556	0,6521474	1,1713245	0,2108627	efecto competitivo en relacion con las demas cepas microbianas localizadas en el sustrato, posee efecto floculante competitivo a bas de su tasa de replicacion microbiana
<i>Kluyveromyces</i> sp.	1,2081205	3,2016411	0,3244157	1,1794205	1,1251547	1,0210478	0,8946791	0,6542193	1,1358212	se localizan enzimas digestoras de azucars en el medio analizado.
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2,2315454	2,9019678	1,0546344	1,1475485	1,4851775	0,3695124	0,5321424	2,5421467	0,9451474	asociada al grupo de Saacharomyces, degrada zucarars simples.
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1,6582145	2,3544678	1,0247032	0,9195684	0,5487546	1,10214	0,7514515	3,5474614	0,2584737	producto de acidos organicos, enzimas digestivas, asociada a saacharomyces.
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1,3325146	2,3415391	0,6231845	n.d.	n.d.	0,5873157	n.d.	2,0545846	0,1258215	altamente dependiente de condiciones organicas de sustrato, alta produccion de quelatos minerales.
<i>Faeribacillus</i> sp.	1,2016579	1,0124413	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,0132421	n.d.	catalitico de azucars complejos del sustrato analizado
<i>Pseudomonas</i> sp.	0,9658405	1,2150154	0,5743164	0,6547419	0,3621543	n.d.	0,45751321	1,5545214	0,3147821	bioacalizador de materia organica, forma sideroforos debiles.
<i>Plicha</i> sp.	1,0235453	0,9512473	1,2154348	1,12484557	1,1024521	0,8521244	0,31475137	2,9454889	n.d.	aparece generalmente luego de la produccion de alcoholes debiles de la muestra. Se correlaciona con Saacharomyces. Forma coagulos de enzimas.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,2851342	2,2547634	0,3685793	2,25491846	1,1845727	1,0245791	0,65214821	2,2155656	0,6248501	altamente agresiva en crecimiento, tanto en aerobiosis como en anaerobiosis, produce alcoholes, coadyuva la sintesis de enzimas con los demas microorganismos
<i>Saccharomyces</i> sp.	2,0244577	3,2057958	1,0236305	1,1856473	1,0512786	0,6284676	1,14218473	2,4301578	0,5142143	se presenta como una variacion de <i>S. cerevisiae</i> , posiblemente como un biovar, tiene las mismas funciones como la anterior.
n.d. no determinado										
pH	3,9	3,5	3,2	3,3	3,6	3,5	3,5	3,6	3,8	
se m8ton	16,3	15,1	15,2	16,1	15	16	15	14	13,3	
sd	1,82	1,1	1,85	1,84	1,85	1,85	1,4	1,6	1,5	

Fecha de Laboratorio: 01.02.2019  
 Solicitado por: Alvaro Bastin  
 email: abastin31@gmail.com  
 Tipo de muestras: liquidas con fermentacion  
 Tipo de Analisis: BIOGRAMA MICROBIANO BIOCATALITICO  
 Orden de trabajo: PSL 795  
 Factura: 333

METODOLOGIA  
 Observación directa (OD).  
 Colorimetría de muestras de estados inducidos (OMES).  
 Analisis en Micropiats (AMP, MA, APD, NA, KB, KA).  
 Microscopia NICO conjugados Enzimaticos (ICE).  
 Cámara Microscopica Infraroda (CMI).  
 Difusion Microscopica Normankis (DMN).  
 Reaccion Enzimatica Microbiana (REM).  
 Microscopia de Fluorescencia (MF).

Carlos Falconi Borja Ph.D.  
 BIONIKA LABORATORIOS  
 cfalconi-labs@biosoftware.de  
 www.bkli.eu  
 plantspherelab@biosoftware.de  
 0999796977-0988087236-26023531

**PERMISO DEL AUTOR DE TESIS PARA SUBIR AL REPOSITORIO  
INSTITUCIONAL**

Yo, **Álvaro Patricio Blandín Arévalo** portador de la cédula de ciudadanía N° 1400614846. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación "**Caracterización de microorganismos benéficos de la filósfera de café(*Coffea arabica*), banano (*Musa paradisiaca*) y limón (*Citrus llimon*) procedentes de tres regiones del Ecuador**" de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, Así mismo; autorizo a la Universidad para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 27 de febrero de 2019

F:   
Álvaro Patricio Blandín Arévalo  
C.I. 1400614846