



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL**

**FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN DE BIOCATALIZADOR PARA  
PLANTAS DE CAFÉ (*Coffea arabica*) A NIVEL DE VIVERO**

**Trabajo de Integración Curricular**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA AMBIENTAL**

**AUTORA:** CARLA JHAMILEX LUZURIAGA CHACÓN

**DIRECTOR:** Ing. JUAN PABLO HARO ALTAMIRANO Ph.D

Macas – Ecuador

2022

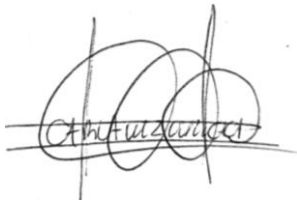
© 2022, **Carla Jhamilex Luzuriaga Chacón**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, CARLA JHAMILEX LUZURIAGA CHACÓN, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Macas, 15 de febrero de 2022




A handwritten signature in black ink, consisting of several overlapping loops and a horizontal line at the bottom. The signature is written over a horizontal line.

**Carla Jhamilex Luzuriaga Chacón**

**1400639421**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL**

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que, el Trabajo Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación, **FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN DE BIOCATALIZADOR PARA PLANTAS DE CAFÉ (*Coffea arábica*)**, realizado por la señorita: **CARLA JHAMILEX LUZURIAGA CHACÓN**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Miguel Osorio Rivera Mgs. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>	 Firmado electrónicamente por: <b>MIGUEL ANGEL OSORIO RIVERA</b>	2022-02-15
Ing. Juan Pablo Haro Altamirano Ph. D <b>DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>	 Firmado electrónicamente por: <b>JUAN PABLO HARO ALTAMIRANO</b>	2022-02-15
Ing. Sandra López Sampedro Mgs. <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	 Firmado electrónicamente por: <b>SANDRA ELIZABETH LOPEZ SAMPEDRO</b>	2022-02-15

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo lo dedico principalmente a mi hijo Jhosafat Contreras Luzuriaga, quien con su cariño y comprensión me ha motivado día a día en cumplir mi meta, con su compañía y alegría. A mi madre Ilda Chacón y a mis padres Luis Luzuriaga y Marco Merino, a mis familiares y allegados, quienes han sido un pilar fundamental en mi vida y sin su apoyo este logro no hubiese sido posible, cada uno de ustedes ha aportado grandes cosas a mi vida y me han ayudado siempre cuando lo he necesitado.

*Carla*

## **AGRADECIMIENTOS**

Principalmente agradezco a Dios por haberme permitido llegar a este momento tan importante de mi formación profesional. Mi más sincero agradecimiento al Dr., Carlos Falconi, por haberme impartido sus conocimientos y ayudado en su laboratorio para la elaboración de mi biocatalizador. De manera especial a los Ing. Juan Pablo Haro Altamirano y Sandra López Sampedro quienes han sido guía y apoyo en la realización de este trabajo, por haberme brindado su apoyo. Agradezco también a mis padres, quienes me han apoyado en el transcurso de mi carrera profesional y compartir conmigo alegrías y fracasos.

*Carla*

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS .....	x
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xiii
RESUMEN .....	xiv
ABSTRACT .....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	xv

### CAPÍTULO I

<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL .....</b>	<b>2</b>
<b>1.1. El café (<i>Coffea arabica</i>) .....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.1. Generalidades .....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.2. Clasificación taxonómica .....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.3. Morfología del café (<i>Coffea arabica</i>) .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.3.1. Raíces .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.3.2. Tallo.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.3.3. Hojas .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.3.4. Flor .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.3.5. Fruto .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.4. Variedades del café (<i>Coffea arabica</i>).....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.4.1. Typica .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.4.2. Bourbón .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.4.3. Caturra.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.4.4. Catuaí.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.5. Plagas .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.5.1. La broca .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.5.2. Minador de las hojas .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.5.3. Palomillas .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.6. Enfermedades .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.6.1. Ojo de gallo .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.6.2. Mancha de Hierro .....</b>	<b>8</b>
<b>1.1.6.3. La Roya .....</b>	<b>8</b>

1.1.7.	<i>Café en vivero</i> .....	9
1.2.	<b>Fertilización en café</b> .....	8
1.2.1.	<i>Generalidades</i> .....	8
1.2.2.	<i>Tipos de fertilización</i> .....	9
1.2.2.1.	<i>Fertilización química</i> .....	9
1.2.2.2.	<i>Fertilización orgánica</i> .....	10
1.3.	<b>Biocatalizadores</b> .....	9
1.3.1.	<i>Generalidades</i> .....	9
1.3.2.	<i>Tipos de biocatalizadores</i> .....	10
1.3.3.1.	<i>Biocatalizador enzimático</i> .....	10
1.3.3.2.	<i>Biocatalizador microbiano</i> .....	101
1.3.3.3.	<i>Microorganismos benéficos del suelo</i> .....	101
1.3.3.4.	<i>Micorrizas arbusculares</i> .....	101
1.3.3.5.	<i>Trichoderma</i> .....	102
1.3.3.6.	<i>Pseudonomas</i> .....	102
1.3.3.	<b>Biocatalización en plantas</b> .....	12

## CAPÍTULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	13
2.1.	<b>Ubicación de la zona de estudio</b> .....	13
2.2.	<b>Fase 1: Muestra rizosférica</b> .....	13
2.3.	<b>Análisis preliminares de las muestras rizosféricas</b> .....	14
2.3.1.	<i>Análisis físico-químicos</i> .....	14
2.3.2.	<i>Densidad aparente</i> .....	15
2.3.3.	<i>Conductividad</i> .....	15
2.3.4.	<i>Potencial de hidrógeno (pH)</i> .....	15
2.4.	<b>Cuantificación de microorganismos por root print</b> .....	15
2.4.1.	<i>Materiales y equipos</i> .....	15
2.4.2.	<i>Agar papa dextrosa (PDA)</i> .....	16
2.5.	<b>Aislamiento de microorganismos por el método root print</b> .....	16
2.5.1.	<i>Método por diseminación en la superficie de un medio sólido en placa Petri</i> .....	16
2.6.	<b>Cuantificación de microorganismos por diluciones (Segunda fase)</b> .....	16
2.6.1.	<i>Materiales y equipos</i> .....	16
2.6.2.	<i>Metodología aplicada</i> .....	17
2.6.3.	<b>Cuantificación de microorganismos</b> .....	17
2.6.3.1.	<i>Número de bacterias</i> .....	17



<b>2.7.</b>	<b>Diseño Experimental</b> .....	18
<b>2.7.1.</b>	<i>Análisis experimental</i> .....	18
<b>1.7.1.1.</b>	<i>Análisis estadístico Descriptivo</i> .....	179
<b>2.7.2.</b>	<i>Planteamiento de la hipótesis</i> .....	18
<b>2.7.3.</b>	<i>Identificación de las variables</i> .....	19

### **CAPÍTULO III**

<b>3.</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS</b> .....	20
<b>3.1.</b>	<b>Análisis del entorno natural de la zona radicular del café</b> .....	22
<b>3.1.1.</b>	<i>Reacción (pH)</i> .....	22
<b>3.1.2.</b>	<i>Microorganismos presentes</i> .....	22
<b>3.1.3.</b>	<i>Cantidad de microorganismos</i> .....	22
<b>3.1.4.</b>	<i>Microorganismos encontrados</i> .....	22
<b>3.2.</b>	<b>VARIABLES ANALIZADOS EN EL ENSAYO</b> .....	22
<b>3.2.1.</b>	<i>Número de hojas</i> .....	22
<b>3.2.2.</b>	<i>Longitud de tallo</i> .....	22
<b>3.2.3.</b>	<i>Longitud de raíz</i> .....	22

	<b>CONCLUSIONES</b> .....	30
--	---------------------------	----

	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	31
--	------------------------------	----

### **BIBLIOGRAFÍA**

### **ANEXOS**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Clasificación taxonómica del café ( <i>Coffea arabica</i> ).....	2
<b>Tabla 1-2:</b>	Codificación de las muestras rizosféricas .....	14
<b>Tabla 2-2:</b>	Concentración de bacterias por muestra.....	17
<b>Tabla 3-2:</b>	Codificación de los tratamientos y de las repeticiones .....	18
<b>Tabla 4-2:</b>	Identificación de las variables con los parámetros y las dosis utilizadas .....	19
<b>Tabla 1-3:</b>	Cantidad de microorganismos presentes en la zona radical de suelos .....	21
<b>Tabla 2-3:</b>	Pruebas de los efectos inter-sujetos .....	195
<b>Tabla 3-3:</b>	Prueba de medias para el número de hojas en los diferentes tratamientos.....	25
<b>Tabla 4-3:</b>	Pruebas de los efectos inter-sujetos .....	197
<b>Tabla 5-3:</b>	Prueba de medias para la longitud del tallo (cm) en los diferentes tratamientos ...	25
<b>Tabla 6-3:</b>	Pruebas de los efectos inter-sujetos .....	29
<b>Tabla 7-3:</b>	Prueba de medias para la longitud de la raíz (cm) en los diferentes tratamientos..	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Insecto causante de la broca en café ( <i>Hypothenemus hampei</i> ).....	6
<b>Figura 2-1:</b> Hoja de café afectada por hongo ( <i>Mycena citricolor</i> ).....	7
<b>Figura 1-2.</b> Ubicación del ensayo.....	13

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b>	Reacción (pH) medido en la zona radical de plantas de café previo al ensayo. ...	20
<b>Gráfico 2-3:</b>	Número promedio de hojas por plántula en cada tratamiento. ....	23
<b>Gráfico 3-3:</b>	Longitud del tallo (cm) promedio por plántula en cada tratamiento. ....	25
<b>Gráfico 4-3:</b>	Longitud de las raíces (cm) promedio por plántula en cada tratamiento. ....	27

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** TOMA DE LA MUESTRA RIZOSFÉRICA DE LAS PLANTAS DE CAFÉ  
(*Coffea arábica*)
- ANEXO B:** ELABORACIÓN ROOT PRINT
- ANEXO C:** CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS
- ANEXO D:** REJILLAS DE ELIZAS PARA IR AL ESPECTOFOTOMETRO
- ANEXO E:** BIOCATALIZADOR EMBAZADO
- ANEXO F:** COLOCACIÓN DEL BIOCATALIZADOR
- ANEXO G:** EVALUACIÓN INICIAL DE LAS PLANTAS DE CAFÉ (*COFFEA ARÁBICA*)
- ANEXO H:** EVALUACIÓN FINAL DEL BIOCATALIZADOR EN LAS PLANTAS DE  
CAFÉ (*Coffea arábica*)

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue realizar la evaluación de un biocatalizador obtenido a partir de muestras de suelo en campo. El estudio fue evaluado en plantas de café (*Coffea arabica*) en el vivero de la fundación ATASIM, ubicado en la parroquia San Isidro, del cantón Morona, provincia de Morona Santiago. El biocatalizador se elaboró en base al análisis de cuatro muestras rizosféricas diferentes, luego de analizar diferentes parámetros se escogió la mejor muestra para la elaboración. El biocatalizador fue evaluado por el crecimiento de la longitud del tallo, longitud de raíces y número de hojas, se realizó la evaluación por un periodo de un mes en intervalos de una semana. Los resultados de las pruebas de medias de Tukey y Duncan mostraron diferencias estadísticamente significativas entre el testigo y algunos de las dosis utilizadas, particularmente la de 10 cm<sup>3</sup> en el caso de la longitud de raíces, y números de hojas y la de 5 cm<sup>3</sup> en el caso de la longitud del tallo. Llegando a la conclusión que el biocatalizador utilizado tiene un efecto sobre el desarrollo de las plántulas de café en vivero en las dosis utilizadas, por lo que sería recomendable continuar el ensayo con diferentes dosis, para así obtener un mejor resultado y pueda ser utilizado por los productores.

**Palabras clave:** < BIOCATALIZADOR >, < CAFÉ (*Coffea arabica*) >, < RIZOSFERICAS >, < DOSIS >, < PLÁNTULAS >.



Firmado electrónicamente por:

**LEONARDO  
FABIO MEDINA  
NUSTE**



1351-DBRA-UTP-2022

## **ABSTRACT**

This study aimed to evaluate a biocatalyst derived from soil samples collected on the field. The study was evaluated in coffee plants (*Coffea arabica*) in the garden center of ATASIM foundation, located in San Isidro civil parish, Morona canton, Morona Santiago province. The biocatalyst was developed starting from the analysis of four different rizosphere samples. After analyzing various parameters, it was selected the best sample to be developed. The biocatalyst was evaluated regarding the development of the stem and roots length, numbers of leaves; it was realized for a month at intervals of one week. The results of the Tukey and Duncan tests showed significant statistical differences between the observer and some of the used doses, especially the one of 10 cm<sup>3</sup> as regard to the root length and numbers of leaves and the one of 5 cm<sup>3</sup> of the stem length. In conclusion, the biocatalyst used has an impact on the development of the coffee seedlings in the garden center in used doses, so that it is recommended to continue testing different doses, to obtain a better result and to be used by the producers.

**Keywords:** <BIOCATALYST>, <COFFEE (*Coffea arabica*)>, <RIZOSPHERE>, <DOSIS>, <SEEDLINGS>.

A handwritten signature in black ink, reading "Jessica Galumbi". The signature is written in a cursive style with a large initial 'J' and 'G'.

## INTRODUCCIÓN

El café es uno de los productos agrícolas que más se consumen a nivel mundial, debido a su agradable sabor y aroma. En el Ecuador se cultivan cafetales de especies arábicas y robustas en aproximadamente 213175 hectáreas en su territorio. La exportación del café ecuatoriano se realiza a nivel mundial (Pozo, 2014 p. 5), el cual aporta con el desarrollo económico del país, gracias a sus diferentes actividades que se realizan como es su producción, comercialización, industrialización y exportación (Villacis y Tito, 2016, p. 14). Según los autores (Acosta Garcia y León Fuentes, 2017, p. 2) en el Ecuador existe desconocimiento acerca de la prevención y control de enfermedades, fertilización y manejo del cultivo, que se debe tomar en cuenta para así obtener una producción adecuada. Los autores (Villacis y Tito, 2016, p. 2) indican, que los cafetales del Ecuador tienen baja competitividad debido a que desde el vivero no se realiza un adecuado control y manejo del mismo.

En la provincia de Morona Santiago existen aproximadamente 700 ha de cultivo de café según el MAGAP, los cuales se encuentran expuestos a una serie de enfermedades y plagas que reducen el rendimiento del mismo. En la parroquia San Isidro, la cual se encuentra en la provincia de Morona Santiago, pobladores realizan la siembra y cosecha del café. Las plantas presentan plagas y enfermedades, las cuales son controladas con microorganismos recolectados de la montaña.

El café es una planta que se puede multiplicar por viveros, embriones, y por estacas, generalmente la primera es la más utilizada. Es muy común utilizar fertilizantes químicos en las plantas de café en el vivero, los cuales se aplican periódicamente, las plantas permanecen en el vivero de 4 a 6 meses (Adriano et al., 2011, p. 2). El uso indiscriminado de fertilizantes químicos aporta a la destrucción de ecosistemas, dificulta la preservación de recursos naturales y afecta la salud de la población (Rodríguez, Suárez y Estrada, 2014, p. 3), por esta razón se ha planteado la formulación de un biocatalizador que pueda reemplazar a ya antes mencionados productos químicos.

Según estudios el biocatalizador es un acelerador el cual ayuda en el proceso de crecimiento, además puede ayudar a controlar las plagas y enfermedades que presenta las plantas a lo largo de su vida. La aplicación de un biocatalizador en las plantas de café (*Coffea arábica*), ayuda a mejorar el desarrollo vegetativo del cultivo, teniendo en consideración un crecimiento de hasta el 9% en cuanto a toda la planta (Cuenca, 2016 p. 4). Con el desarrollo de este biocatalizador para plantas de café (*Coffea arábica*) a nivel de vivero, se realizará la evaluación de la florífera, tallósfera y rizosfera (Falconi, 2020 p 1). En conjunto con la fundación ATASIM, se pretende realizar la investigación de la evaluación de un biocatalizador que ayude o que mejore la producción del café (*Coffea arábica*) a nivel de vivero. Con la finalidad de obtener una planta sana y vigorosa, que a futuro pueda generar una mejor producción en cuanto al rendimiento y calidad. Además, al momento de utilizar un biocatalizador, se reduce la utilización de químicos que causan un impacto ambiental en el ecosistema.



# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

El café es un cultivo de gran importancia en el mundo, en el Ecuador es uno de los principales productos de exportación que colaboran con la economía (Guilcapi, 2009, p. 9), por esta razón se planteó la formulación y evaluación de un biocatalizador que ayude en el crecimiento de la planta en el vivero y así poder analizar los resultados del mismo.

### 1.1. El café (*Coffea arábica*)

#### 1.1.1. Generalidades

El café de la especie arábica es originario de Etiopía (Maulana, 2017, p. 15), sus frutos de agradable aroma y sabor son comercializados alrededor del mundo. Sin embargo, existen varias leyendas acerca del descubrimiento de este cultivo. Según Pilatasig y Luna (2017, p. 7), un pastor al ver que sus cabras se ponían nerviosas después de consumir este fruto, otra versión dice que los monjes utilizaban el fruto del café para mantenerse despiertos en la noche.

En el Ecuador el café arábigo, se produjo en el año 1830 en la provincia de Manabí (Amores et al. , 2004 p. 2), sin embargo dicho cultivo ha sido expandido por los emprendedores agricultores en casi todas las provincias del país.

La variedad *catucai* pertenece al cruce de Caturra por Mundo Novo, son cultivares de origen brasilero. Trata de una hibridación, la cual la realizaron Carvalho y Monaco. El primer caso de hibridación de *catucai* fue en el año de 1949 (Alcantara, 1990, p. 2). El objetivo de este cruce de variedades es obtener una planta que produzca frutos de mayor calidad y resistente a enfermedades (Jiménez y Carril, 2014, p. 3).

#### 1.1.2. Clasificación taxonómica

**Tabla 1-1:** Clasificación taxonómica del café (*Coffea arabica*)

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Sub-División	Angiospermae
Clase	Magnoliata
Sub-Clase	Asteridae
Orden	Rubiales
Familia	Rubiaceae
Genero	<i>Coffea</i>
Especie	<i>Coffea arabica L.</i>

Fuente: Andia, 2016, p. 15.

Realizado por: Luzuriaga, Carla, 2021.

### ***1.1.3. Morfología del café (Coffea arábica)***

#### ***1.1.3.1. Raíces:***

Las raíces son el órgano principal de la planta, el mismo que cumple un rol fundamental en el crecimiento y producción del cafeto. Debido a que es el encargado de absorber y transportar agua del suelo (Arcilla, 2007, p. 3).

El café presenta diferentes raíces, las cuales se pueden clasificar como pivotante, axiales o de sostén, laterales y raicillas. La pivotante es la raíz central de la planta o se le puede considerar como la raíz principal, la cual presente el tamaño máximo en comparación con las demás. En una planta adulta el tamaño de la misma puede alcanzar de 50 a 60 cm, las raíces axiales se originan a partir de la raíz principal o pivotante, mientras que las laterales se derivan de las axiales y sucesivamente las raicillas de las anteriores (Estelita, 2016, p. 15).

#### ***1.1.3.2. Tallo:***

El café es considerado un arbusto, el cual tiene un tallo que es el tallo central, en el mismo se encuentra una yema terminal que es la encargada de formar nudos y entrenudos (Pilatasig y Luna, 2017, p. 24).

El tallo presenta características leñosas, erecto y además cuenta con una longitud diversa de acuerdo a la variedad. Es capaz de producir tres yemas que originan partes distintas de la planta, como las ramas y las hojas (Marín, 2012, p. 14).

Según el autor Arcila et al.(2007, p. 21), el tallo del café presenta un nudo al final del mismo, el cual forma 6 yemas a ambos lados. En la cual cumple un proceso que consiste en una secuencia del crecimiento de la rama lateral, la yema seriada forma chupones y este origina los frutos.

#### ***1.1.3.3. Hojas:***

Las hojas son consideradas como los órganos del cafeto, el autor Guilcapi (2009, p. 12) menciona que las hojas de la planta de café se forman en diferentes ramas, pueden estar en las primarias, secundarias y en el tallo joven, en cada nudo se puede encontrar un par de hojas, las cuales van a presentar un tamaño variado de 12 a 15 cm de largo aproximadamente y 6 cm de ancho, presentan forma elíptica y acuminada. Además el autor Marín (2012, p. 12) menciona que las hojas pueden llegar a medir de 12 a 24 cm de largo y de 5 a 12 cm de ancho, también indica que si forma puede ser elíptica o lanceolada.

Fernandez (2015, p. 16) menciona que la formación de hojas ocurre durante todo el año, pero su crecimiento es mayor en condiciones climáticas óptimas, además de la cantidad de sombra que se encuentra en el lugar del cafeto.

#### *1.1.3.4. Flor:*

EL café presenta flores blanquecinas y de buen aroma, su corola es un tubo largo el mismo que se expande en cinco lóbulos estrechos, los estambres se encuentran sujetos a los pétalos, su estilo es largo y el estigma bilobado (Fernandez, 2015, p. 15). El autor ARIAS, (2018, p.10) indica que su flor es hermafrodita, las partes de la misma son: cáliz, corola, estambres y pistilo.

Las flores se forman en las yemas ubicadas en la axila foliar las cuales se encuentran en los nudos de las ramas. Cada flor se encuentra en las ramas, las cuales tienen dos axilas foliares opuestas, en cada axila foliar se encuentran yemas y ahí crecen de 4 a 5 flores según el autor (Arcila, 2007 p. 21).

#### *1.1.3.5. Fruto:*

El autor Marín (2012, p. 14) menciona que el fruto del cafeto es una baya la cual tiene dos almendras con sus respectivos embriones, los mismos constituyen una familia.

Los frutos se obtienen a través de la fecundación, la cual consiste en la unión del grano de polen con el ovulo formado, el autor ARIAS (2018, p. 23) menciona que el tiempo de crecimiento del fruto varía de 210 a 230 días, según las condiciones agroecológicas. Mientras que Alulima (2012, p. 16) señala que el fruto madura en 28 semanas después de la floración.

### ***1.1.4. Variedades del café (Coffea arábica)***

#### *1.1.4.1. Typica:*

Es una variedad de café de la especie (*Coffea arabica*) que presenta una altura de hasta 4 m, tiene un alto rango de adaptabilidad, de buena calidad sin embargo es susceptible a la roya (Cuenca, 2016, p. 9).

El autor Guilcapi (2009, p. 8) menciona, que son plantas con numerosas ramas laterales, su vida útil puede superar hasta los 50 años, en los lugares donde más se encuentra son en las provincias de Manabí, El Oro y Loja.

#### *1.1.4.2. Bourbon:*

Los autores Villacis y Tito (2016, p. 20) relatan que, la variedad Bourbon es originaria de Islas Reunión, presenta dos cultivares, el bourbon rojo y bourbon amarillo.

Su tamaño es similar al de la variedad Típica, sus ramas forman un ángulo de 45 grados con relación al eje ortotrópico, en Ecuador se inició con el cultivo en el año 1956 (Cuenca, 2016, p. 9).

#### *1.1.4.3. Caturra*

La variedad caturra se presenta en dos cultivares, en caturra rojo y caturra amarilla. Su tamaño es bajo, generalmente de buena productividad, sin embargo, al igual que varias especies también es susceptible a la roya (Guilcapi, 2009, p. 8).

El cafeto de variedad caturra es considerado como uno de los más resistentes además de su alto índice de adaptabilidad, buena producción y de características organolépticas buenas. En el Ecuador se inició con el cultivo del mismo en el año 1956 (Cuenca, 2016, p. 9).

#### *1.1.4.4. Catuaí*

El origen de la variedad Catuaí es de Brasil, presenta una genética híbrida. Tiene dos cultivares que es el Catuaí rojo y Catuaí amarillo (Cuenca, 2016, p. 9).

Su tamaño es bajo, pero presenta una alta capacidad de producción, sus ramas son abundantes por lo que su aspecto es un arbusto vigoroso y la altitud óptima para el crecimiento de la planta es de 600 a 1000 m.s.n.m. (Meneses, 2012, p. 26).

#### *1.1.5. Plagas*

En el Ecuador existen muchas deficiencias en el manejo de control de plagas y enfermedades en las plantas de café, las principales causas de este déficit según Cuenca (2016, p. 23) es la deficiente nutrición, inadecuada regulación de sombra y la carencia de desyerbes o podas. Los autores Sotomayor y Duicela (1995, p. 7) relatan que los hongos patógenos han causado serios problemas en la producción cafetalera ecuatoriana, estos hongos atacan principalmente a las hojas y causan enfermedades como la Roya, Mal de hilachas, ojo de gallo, entre otras, las cuales traen consecuencias perjudiciales, como la reducción de su capacidad fotosintética que afecta significativamente en el crecimiento y producción de la planta de cafeto.

#### 1.1.5.1. *La broca:*

La broca es un gorgojo de color negro, su tamaño es pequeño, igual a la cabeza de un alfiler, esta plaga es una de las más perjudiciales en las plantas de café, debido a que perfora la cereza o el fruto del cafeto (Guilcapi, 2009, p. 29).

El autor Mendoza (1988, p. 2) indica que para controlar la plaga es necesario mantener un deshierbe adecuado y una recolección de frutos oportuna, además recomienda mejorar su plantación para que permita el crecimiento de plantas sanas y resistentes.



**Figura 1-1:** Insecto causante de la broca en café  
(*Hypothenemus hampei*)

**Fuente:** Gallardo y Gonzalez, 2007, p. 12.

#### 1.1.5.2. *Minador de las hojas*

El autor ARIAS (2018, p. 16) indica que el minador de hojas es un insecto fitófago del orden *Lepidoptera* que provoca o que genera la pérdida de hojas del café. Esta plaga se encuentra de forma más frecuente en plantas que están expuestas al sol, se pueden afirmar que esta plaga ocurre con mayor frecuencia durante la época seca.

#### 1.1.5.3. *Palomillas*

Las palomillas según relata el autor Guilcapi (2009, p.,29), son insectos chupadores que viven en simbiosis con las hormigas, estas atacan preferentemente a las raíces de los cafetos y la consecuencia de estas puede ser hasta la muerte del cafeto.

## 1.1.6. Enfermedades

### 1.1.6.1. Ojo de gallo

El autor Guilcapi (2009, p. 27) menciona que el ojo de gallo es una enfermedad causada por un hongo (*Mycena citricolor*), el cual afecta a las hojas, ramas y frutos del café, esta enfermedad suele ser provocada por las condiciones de humedad alta, exceso de sombra y en climas templados. El *Mycena citricolor* el cual presenta dos tipos de cuerpos fructíferos, las gemas o cabecitas que corresponden al estado asexual del hongo, su estructura consta de dos partes, un pedicelo y una cabeza (SENASICA, 2014, p. 8).

El ojo de gallo aparece en las hojas de las plantas en forma de manchas circulares generalmente de color amarillento, que con el tiempo se oscurecen, causando el desprendimiento del tejido muerto, esta enfermedad suele desarrollarse en épocas de lluvia (Abarca y Armendáriz, 2014: p. 69).



**Figura 2-1:** Hoja de café afectada por hongo (*Mycena citricolor*)

Fuente: SENASICA, 2014, p. 1.

### 1.1.6.2. Mancha de Hierro

La mancha de hierro es una enfermedad que por lo general afectan a los frutos y hojas del cafeto, su nombre científico es *Cercospora coffeicola* (Cuenca, 2016, p. 12).

Sus características son pequeñas manchas circulares de 3mm a 10mm de color pardo claro o marrón rojizo. Es una enfermedad de fácil propagación, puede afectar a todas las zonas cafetaleras, en especial a las plantaciones sin fertilizar y a los cafetos en el vivero, esta enfermedad causa defoliación y disminución de la calidad del grano (Guilcapi, 2009, p. 25).

### *1.1.6.3. La roya*

La roya del café es una de las enfermedades más destructivas, se produce por el hongo *Hemileia vastatrix*, la sintomatología de la roya son manchas en las hojas, redondeadas amarillas, que al tocarlas emanan un polvo de color naranja (Romero, 2017, p. 34).

El autor Jaya (2017, p. 30) menciona, la roya por lo general ataca a las variedades de resistencia genética a la roya como: Caturra, Catuaí, Bourbon, Típica, Pache y otras susceptibles.

Además son características de zonas bajas, con exceso de sombra y de humedad, también se puede encontrar esta enfermedad en plantas desnutridas y expuestas a mucho sol (Cuenca, 2016, p. 12).

### *1.1.7. Café en vivero*

El vivero de las plantas de café (*Coffea arabica*), es el sitio en el cual las plantas logran su desarrollo hasta la siguiente etapa que es el establecimiento en el campo, las mismas que pueden encontrarse de dos diferentes formas o tratamientos, los cuales consisten en la crianza de plántulas en fundas de polietileno o crianza de plántulas en camellones. Es necesario cumplir con parámetros o pasos a seguir en el vivero, con la finalidad de crear un ambiente adecuado para el crecimiento de las plántulas de café y asegurar un material de siembra de buena calidad (Duicela et al., 2004, pp. 21-30). El autor Marín (2012, p. 22) indica, que es necesario el riego por la mañana y por la tarde para mantener una humedad adecuada, además de realizar el deshierbo mensualmente, realizar la aplicación de abono mensualmente, realizar un control y monitoreo de plagas y enfermedades y un adecuado manejo de sombra, al inicio debe tener un 60% de luz y a partir del cuarto mes un 100 %.

Las plantas deben permanecer en el vivero hasta que logren de 4 a 6 hojas, luego estarán listas para ser plantadas en el terreno.

## **1.2. Fertilización en café**

### *1.2.1. Generalidades*

El objetivo de una fertilización responsable y adecuada es reemplazar los nutrientes del cultivo agrícola en el momento que este lo necesite, tratando de suplir los nutrientes necesarios para la planta (IDIAF, 2012, p. 12). Es importante realizar el mantenimiento en cuanto a la capacidad productiva del suelo, el cual ayuda a tener una mejor nutrición vegetal para así evitar la carencia de nutrientes y de materia orgánica (Cuenca, 2016, p. 24).

## **1.2.2. Tipos de fertilización**

### **1.2.2.1. Fertilización química**

Los fertilizantes y plaguicidas son vendidos en todo el mundo y el manejo inadecuado de estos ha generado problemas en la calidad del suelo como la infertilidad, y la disminución de materia orgánica y nutrientes nativos, ocasionando alteraciones al ecosistema.

El autor Izquierdo (2017, p. 9) menciona que, al momento de exceder el uso de plaguicidas en los cultivos, estos se vuelven tóxicos, causando un efecto de bioacumulación, es decir, que los plaguicidas demoran años en descomponerse en productos de menor toxicidad.

La contaminación por fertilizantes se produce por el exceso de los mismos o por acción del agua o del viento antes de que este fertilizante sea absorbido (Calderón, 2015, p. 26). Además, esta contaminación se puede generar en aguas subterráneas o artificiales por lixiviación.

Según el autor, indica que una correcta fertilización química en plantas de café sería en 4 aplicaciones, debiendo realizarse la primera, cuando la plántula tenga de 2 a 3 pares de hojas y las siguientes en intervalos de 75 días (Chaves, 1999, p. 6).

### **1.2.2.2. Fertilización orgánica**

Los fertilizantes orgánicos son compuestos que se obtienen por la descomposición o mineralización de residuos orgánicos, dicho material es utilizado para mejorar la calidad del suelo y aumentar los nutrientes para beneficio del cultivo (Yugsi, 2011, p. 12).

El autor Cuenca (2016, p. 15) relata que la fertilización orgánica tiene como objetivo aportar los suplementos necesarios para que el suelo a través de sus fenómenos físico-químicos proporcionen una adecuada alimentación y de un equilibrio a la planta.

Los abonos orgánicos facilitan la diversidad de microorganismos benéficos en el suelo, para favorecer la nutrición de las plantas, además de controlar plagas y enfermedades (Galarraga, 2018, p. 5), de esta manera se elimina el uso de agroquímicos, el resultado sería una reducción de costos de producción y un ambiente sano.

## **1.3. Biocatalizadores**

### **1.3.1. Generalidades**

La definición de catalizadores según el autor Castañeda (2016, pp. 11- 12), son moléculas que aumentan la velocidad de una reacción. Los biocatalizadores son los catalizadores que actúan en reacciones bioquímicas, se puede decir en reacciones que actúen en seres vivos.



La biocatálisis según la autora Ramirez (2018, p. 18), es una reacción química capaz de aumentar la velocidad mediante acción de enzimas, vitaminas, microorganismos, etc., indicando que son parte de un sistema que involucra procesos metabólicos e interacciones simultáneas.

Antiguamente la biocatálisis se basaba en el uso de las células enteras donde las bacterias o levaduras eran utilizadas para llevar a cabo un proceso químico (Fernandez y Hernaiz, 2017, p. 2).

### **1.3.2. Tipos de biocatalizadores**

#### **1.3.2.1. Biocatalizador enzimático**

Las enzimas son catalizadores biológicos, son muy adaptables pues la mayoría son proteínas complejas y flexibles, estas enzimas son encargadas de las reacciones químicas que ayudan a los seres vivos, puede ser en el crecimiento, movilidad, mejora de producción en el caso de plantas, mejora de calidad, entre otros (Lodeiro, 2015, pp. 9-13).

#### **1.3.2.2. Biocatalizador microbiano**

Los microorganismos actúan como biocatalizadores en procesos geoquímicos, actuando como aceleradores de una reacción en seres vivos (Diaz y Iza, 2017, pp. 7-8).

Las enzimas microbianas presentan gran ventaja en la elaboración de biocatalizadores, su costo es bajo y sus técnicas variadas, en comparación con las enzimas de origen animal y vegetal o de otros catalizadores inorgánicos (Arroyo, Acebal y De la Mata, 2014, pp. 3-4).

#### **1.3.2.3. Microorganismos benéficos del suelo**

La asociación Sana (2010, p. 10) menciona que la mayor cantidad de microorganismos se encuentra en las raíces de las plantas, a esto le conocemos como rizósfera. El suelo posee nutrientes propios y microorganismos que ayudan al crecimiento de plantas, además nos indica que estas raíces tienen una concentración de 10 a 50 % de energía fijada por fotosíntesis.

Los microorganismos en el suelo según el autor Higa y Parr (1991, p. 8-14) son un cultivo mixto de microorganismos benéficos de origen natural, que pueden incrementar la diversidad microbiana del suelo y de las plantas.

El autor Cano (2011, p. 2) relata que los microorganismos se asocian a varios factores tanto bióticos que se refiere a la competencia entre microorganismos, composición biológica, también con factores abióticos como el clima y las características del suelo. Se convierte en una interacción de microorganismos rizosférico, dentro de los más comunes tenemos las micorrizas arbusculares, hongos *trichoderma* y bacterias del género *Pseudomonas*.

#### 1.3.2.4. *Micorrizas arbusculares*

El término micorrizas fue definido en el año 1885 por Albert Bernard Frank, trata de un botánico alemán, que según dos términos significa hongo-raíz, el cual confirma la asociación simbiótica mutualista de un hongo y las raíces de la planta, son capaces de mejorar la absorción del agua y nutrientes de la raíz (Navarro, 2008, p. 3).

Las micorrizas son hongos simbioses, pertenecientes al *phylum Glomeromycota*. Se trata de una simbiosis en la cual los hongos de las raíces benefician a la planta, mientras que esta planta también alimenta a los hongos al obtener fotosíntatos (Altamirano, 2018, p. 2).

Los autores Hernández et al. (2020, p. 2) mencionan que a partir de los siglos 80, los fertilizantes orgánicos han remplazado el uso de los químicos, los hongos micorrizos han sido de beneficio para la producción de dichos abonos orgánicos.

#### 1.3.2.5. *Trichoderma*

Los hongos del trichoderma presentan gran variedad de especies, según la investigación de los autores Martínez, Infante y Reyes (2013, p. 1) estos microorganismos se encuentran en ambientes variados, en especial en aquellos que contienen abundante materia orgánica o desechos vegetales en descomposición.

Es un hongo aeróbico, el cual tiene la capacidad de resistir elevadas temperaturas, el autor Humeres (2004, p. 8) indica que según un estudio realizado por McBeath y Adelman aislaron una cepa a 4°C, sin embargo, esta resistió hasta 33 °C. Sin embargo, es necesario aclarar que la temperatura varía según la especie del Trichoderma, además el aislamiento es fundamental en su estudio. Por ejemplo, la especie *T. pseudokoningii* y *T. satumisporum* Hammil tolera hasta los 41°C, las especies *T. koningii* y *T. hamatum* toleran los 35°C, el *T. viride* y *T. polysporum* toleran una temperatura de 31°C y la *T. harzianum* soporta hasta 38°C (Martínez, Infante y Reyes, 2013, pp. 2-3).

#### 1.3.2.6. *Pseudomonas*

Las Pseudomonas son bacterias pertenecientes a la familia *Pseudomonaceae*, se encuentra en el suelo con diferentes especies, en aguas estancadas, inclusive en el intestino de diversas especies de animales. Su función cumple un rol importante, debido a que degradan la materia orgánica, sin embargo, es necesario recalcar que algunas variedades de Pseudomonas son consideradas patógenas con el hombre (Pinzon, 2019, p. 1).

Según un estudio realizado por Fernandez (2015, p. 14) las *Pseudomonas* son bacterias benéficas en las raíces de las plantas, por ende, ayudan en su crecimiento, son consideradas como biofertilizador, fitoestimulador y biocontrolador de fitopatógenos.

Las especies más representativas son *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas chicorii* y *Pseudomonas maltophila* (Cano, 2011, p. 4).

### ***1.3.3. Biocatalización en plantas***

La biocatalización agronómica de los cultivos es la suma de procesos fisiológicos, químicos, bioquímicos, moleculares, biofísicos, seleccionados por organismos que se encuentran en la naturaleza, por medio de un consorcio de macro componentes. Trata de la interacción de varios grupos, tanto de vertebrados complejos como de unicelulares (Falconi, 2020, p. 1). Los biocatalizadores se pueden definir como enzimas, hormonas o vitaminas que aumentan la velocidad de una reacción (Castañeda, 2016, p. 11). Los biocatalizadores se pueden obtener a través de catálisis microbiana, debido a que los microorganismos actúan como productores o consumidores de sustancias agrícolas (Diaz y Iza, 2017, p. 22).

Para la formulación del biocatalizador para plantas de café a nivel de vivero, se evaluará la biofísica del suelo, por medio de un consorcio rizosférico se analizará las bacterias, hongos y nutrientes, que contienen las raíces y finalmente se evaluará el microcosmo para así obtener un biocatalizador que beneficie a la planta.

Las enzimas son muy buenos catalizadores siendo capaces de catalizar una gama bastante amplia de sustratos, siendo una de sus principales ventajas que son reacciones muy eficaces que generan muy pocos residuos por lo que es una alternativa ecológica comparado con catalizadores químicos tradicionales, pudiendo acelerar las reacciones de hasta 10 veces al ser comparada su utilización con las reacciones no catalizadas.

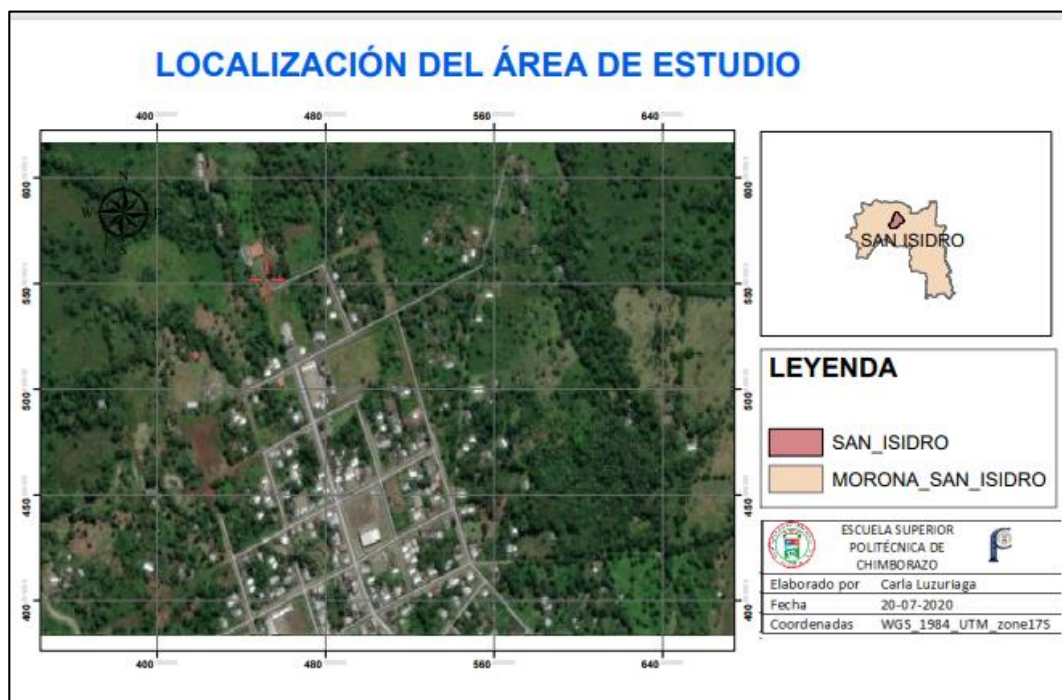
Es necesario considerar que su actividad depende mucho de las condiciones que la rodea, es decir pueden ser afectados por el pH, la temperatura, los solventes, los sustratos y productos que generan, pudiendo ser utilizados para hidrólisis, esterificación, transesterificación y amidación de éster, amida, alcohol, ácido; reducción de la cetona al alcohol; conversión de cetoácido a aminoácido; reacción de hidroxilación; reacción de formación de enlaces C-C, entre otras (Mu, 2019, p. 3)

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Ubicación de la zona de estudio

El presente estudio se realizó en dos etapas, primero se realizó la toma de muestra de material rizosférico, posteriormente además de la evaluación del efecto del biocatalizador en las plantas de café (*Coffea arabica*) se realizó en el vivero de la fundación ATASIM, perteneciente a la comunidad San Isidro, del cantón Morona, provincia de Morona Santiago, la cual se encuentra ubicada a una latitud sur de  $2^{\circ}12'23.101''$  S y longitud oeste  $78^{\circ}9'59.731''$  O y una altura de 1150 m.s.n.m.



**Figura 1-2.** Ubicación del ensayo

**Realizado por:** Luzuriaga, Carla, 2021.

La evaluación del material rizosférico y la formulación del biocatalizador se realizaron en el laboratorio “*Plantsphere Laboratories*”, el cual se encuentra ubicado en la ciudad de Quito.

#### 2.2. Fase 1: Muestra rizosférica

En la fase 1 para el estudio del material rizosférico se tomaron cuatro muestras recolectadas de cuatro plantas de diferente edad, seleccionando las mismas de acuerdo a los criterios de sanidad

vegetal, con el objetivo de evaluar a nivel de laboratorio, la mejor opción para la elaboración del biocatalizador. Las muestras se tomaron de plantas en condiciones naturales, para obtener las condiciones en la pudiesen tener biocatalizadores y que estos estuviesen activos y con variedad de forma que pudiesen producir un efecto sobre los sustratos utilizados.

Cada una de estas muestras se tomaron a una profundidad de 20 cm, según el autor (Schweizer, 2011, p. 13) a esta profundidad se realiza el muestreo tanto de raíces como de suelo.

Las mismas fueron codificadas de la siguiente manera:

**Tabla 1-2:** Codificación de las muestras rizosféricas

Lugar	Características	Número de muestras	Codificación
San Isidro	Planta joven, bajo sombra	1 muestra	CL-001
San Isidro	Planta adulta, con enfermedades y plagas	1 muestra	CL-002
San Isidro	Planta en producción, aparentemente sana	1 muestra	CL-003
San Isidro	Planta joven, aparentemente sana	1 muestra	CL-004

**Realizado por:** Luzuriaga, Carla, 2021.

### 2.3. Análisis preliminares de las muestras rizosféricas

Las muestras fueron seleccionadas como cuatro tratamientos diferentes, los cuales fueron evaluados el ancho y largo de la raíz principal, parámetros físico químicos y su microcosmo. Se analizaron algunas muestras para conocer su actividad y composición, es decir los principales microorganismos que contenían.

Los análisis que se desarrollaron fueron los siguientes: físicos, químicos y microbiológicos.

#### 2.3.1. Análisis físico-químicos

Se realizó el análisis físico químico de cada una de las muestras, se midió la masa, el volumen, se pudo calcular la densidad y además se determinó la conductividad eléctrica y pH de cada uno de los tratamientos.

##### *Materiales y equipos*

- Balanza electrónica
- Vaso de precipitación
- Conductímetro
- pH-metro

### **2.3.2. Densidad aparente**

Es una propiedad física del suelo, trata de la expresión de la relación entre la masa del suelo y el volumen del mismo, incluyendo espacios porosos, el cual además de incluir dichos espacios también incluirá materiales orgánicos (Calvache, 2010, p. 2).

### **2.3.3. Conductividad**

Según los autores Fernandez et al. (2006, p. 19), la conductividad es la capacidad de una solución acuosa de transportar una corriente eléctrica, es una propiedad típica de los suelos la cual se encuentra directamente relacionada con el tipo y valencia de los iones presentes. Trata de una forma indirecta de medir la salinidad de extractos de suelo. Los valores entre 0 y 0.8 ms/cm son aceptables para el adecuado crecimiento de los cultivos (Diaz y Iza, 2017, p. 21). Para medir se utilizó un conductímetro, valores directos. Hanna

### **2.3.4. Potencial de hidrógeno (pH)**

El pH hace referencia a la concentración de iones hidrogeno activos ( $H^+$ ) que se encuentran en la interface líquida del suelo. Nos puede dar una idea del grado de acidez o alcalinidad presente en diferentes muestras (Diaz y Iza, 2017, p. 20). El valor resulta del logaritmo en base 10, en el que expresa por números positivos del 0 al 14, en las condiciones de acidez, neutralidad y alcalinidad (Fernandez et al., 2006, p. 15).

## **2.4. Cuantificación de microorganismos por root print**

El autor indica la metodología root print, la cual consiste en la siembra o impresión de las raíces de cada tratamiento en el medio de cultivo papa dextrosa (*PDA*), que se coloca en cajas Petri totalmente estériles. El método requiere de un área aséptica por lo que es recomendable realizarla en la cámara de flujo laminar, una vez realizado este procedimiento, continua la incubación a 28°C por un lapso de 72 horas, el conteo de bacterias en el rizoplano y rizósfera se realizó después de las 12 horas de incubación y a las 72 horas de incubación.

### **2.4.1. Materiales y equipos**

- Cajas Petri.
- Raíces de cada una de las muestras o tratamiento.
- Medio de cultivo Papa Dextrosa (*PDA*)
- Cámara de flujo laminar

- Incubadora

#### **2.4.2. Agar papa dextrosa (PDA)**

El agar papa dextrosa es un medio de cultivo microbiológico, el cual se obtiene a través de la infusión de papa y dextrosa. Es un medio de cultivo ideal para el crecimiento de hongos y levaduras además de algunos dermatofitos (Enriquez, 2016, p. 6).

### **2.5. Aislamiento de microorganismos por el método root print**

El objetivo de aislamiento es separar una colonia específica de microorganismos de la muestra heterogénea para lo cual se utilizaron materiales y equipos y de esta manera obtener un cultivo puro en cada caja Petri con el medio de cultivo universal.

#### *Materiales y equipos*

- Cajas Petri
- Agar nutritivo universal
- Cámara de flujo laminar
- Mechero
- Ansa
- Incubadora

#### **2.5.1. Método por diseminación en la superficie de un medio sólido en placa Petri**

Es la técnica más utilizada, se calienta el ansa hasta que esta tome una tonalidad rojiza, se enfría en medio de cultivo, y se procede a tomar la muestra del cultivo de microorganismos y se extiende en la caja Petri con el medio agarizado (Sanz, 2011, p. 11). Este procedimiento se realiza en un ambiente libre de contaminación por eso es recomendable utilizar la cámara de flujo laminar, además de estar cerca del mechero.

Una vez aisladas todas las cepas de microorganismos se coloca en la incubadora a una temperatura óptima de 28°C:

### **2.6. Cuantificación de microorganismos por diluciones (Segunda fase)**

#### **2.6.1. Materiales y equipos**

- Balanza
- Erlenmeyer

- Buffer PK
- Twint
- Tubos de ensayo
- Micropipeta
- Puntas amarillas
- Cajas Petri
- Cámara de flujo laminar
- Incubadora

### 2.6.2. Metodología aplicada

El autor García (2010, p. 21) indica el método de diluciones seriadas para la obtención de microorganismos en diferentes concentraciones y diluciones.

Se pesó 6 gr de raíces de cada muestra, y se colocó en un Erlenmeyer con 50 ml de buffer PK y una gota de twint, ahí fue en donde se colocaron las raíces y se le denominó solución madre.

La metodología de diluciones también fue realizada por los autores (Zhang et al., 2019, pp. 8-9) la cual consiste en utilizar una micropipeta (puntas amarillas), para así obtener 1 ml de solución madre y colocar en tubos de ensayo con 9 ml de buffer, a esta la llamaremos dilución  $10^{-1}$ , además se utilizó un vortex para la mezcla de la dilución. La siguiente dilución se realizó con 9 ml de buffer y 1 ml de la dilución  $10^{-1}$ , esta tuvo la etiqueta de  $10^{-2}$ . Este proceso se realizó hasta llegar a la dilución  $10^{-4}$ . Y luego se realizó el aislamiento de los microorganismos. En diferentes cajas Petri con agar nutritivo *PDA* se colocaron 3 repeticiones de las cuatro diferentes diluciones.

### 2.6.3. Cuantificación de microorganismos

#### 2.6.3.1. Numero de bacterias

Para cada una de las muestras se obtuvo la siguiente concentración de bacterias, utilizando el método de las diluciones, seleccionándose para el ensayo la muestra correspondiente a CL- 004.

**Tabla 2-2:** Concentración de bacterias por muestra

Muestra	CL-001	CL-002	CL-003	CL-004
Concentración ( $\times 10^{21}$ ) /ml	5,88	5,94	5,61	6,23

Realizado por: Luzuriaga, Carla, 2021.



## 2.7. Diseño Experimental

### 2.7.1. Análisis experimental

De las cuatro muestras que se utilizaron en los ensayos preliminares la mejor muestra fue la CL004 y se realizó el diseño experimental Completamente al Azar (DCA), con cuatro tratamientos, es decir tres dosis del biocatalizador (5, 7.5 y 10 cm<sup>3</sup>) frente a un tratamiento testigo (0%) con cuatro repeticiones por tratamiento

Se plantearon los niveles o dosis de biocatalizador sumados un grupo de control que en este caso es el testigo, van a ser aplicados en las plantas de café a nivel de vivero, evaluando los parámetros de crecimiento en cuanto al sistema radicular, tallo y número de hojas. De acuerdo al modelo estadístico se realizó el análisis comparativo de las varianzas y determinar el mejor tratamiento.

**Tabla 3-2:** Codificación de los tratamientos y de las repeticiones

Tratamiento	Dosis del biocatalizador	N° repeticiones	Codificación
T <sub>0</sub>	0 cm <sup>3</sup> del biocatalizador	4	T0r1, t0r2, t0r3, t0r4
T <sub>1</sub>	5 cm <sup>3</sup> del biocatalizador	4	T1r1, t1r2, t1r3, t1r4
T <sub>2</sub>	7,5 cm <sup>3</sup> del biocatalizador	4	T2r1, T2r2, t2r3, t2r4
T <sub>3</sub>	10 cm <sup>3</sup> del biocatalizador	4	T3r1, t3r2, t3r3, t3r4

**Realizado por:** Luzuriaga, Carla, 2021.

#### 2.7.1.1. Análisis Estadístico Descriptivo

Para determinar si existe una diferencia significativa en las tres diferentes dosis del biocatalizador se realizó un análisis de varianzas (ANOVA). Cuando el valor de la probabilidad del análisis estadístico (ANOVA) es inferior al nivel de significancia ( $p < 0.05$ ), se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y se acepta la hipótesis alternativa ( $H_i$ ).

$$H_0 = u_1 = u_2$$

$$H_1 = u_1 \neq u_2$$

Para verificar si se cumple la hipótesis alternativa, se analizaron 3 supuestos:

- Análisis de varianza para las diferencias de las medias.
- Separación de medias según las pruebas de Tukey y Duncan al 5%
- Se analizará la gráfica de los residuales.

#### 2.7.2. Planteamiento de la hipótesis

Hipótesis nula: Las diferentes dosis del biocatalizador no generan ningún cambio en el desarrollo, a nivel radicular, tallo y número de hojas, en las plántulas de café a nivel de vivero.

Hipótesis alternativa: Las diferentes dosis del biocatalizador incrementarán el desarrollo a nivel radicular, tallo y número de hojas, en las plantas de café a nivel de vivero.

### 2.7.3. *Identificación de las variables*

**Tabla 4-2:** Identificación de las variables con los parámetros y las dosis utilizadas

<b>Variables dependientes</b>	<b>Variables independientes</b>
Desarrollo radicular	Dosis alta del biocatalizador
Desarrollo del tallo	Dosis media del biocatalizador
Numero de hojas	Dosis baja del biocatalizador

**Realizado por:** Luzuriaga, Carla, 2021

## CAPÍTULO III

### 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

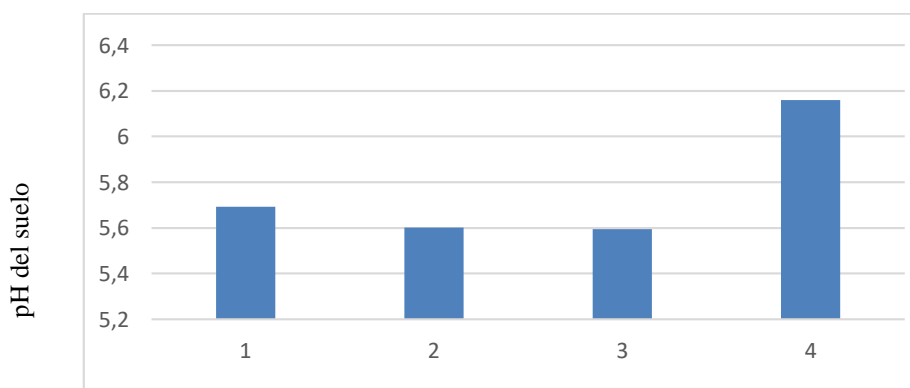
Previo a la instalación del ensayo de biocatalizadores y su efecto sobre el desarrollo de plántulas de café, se realizó un análisis del sustrato para la selección del material a usar como biocatalizador en la investigación, para lo cual se le hicieron los respectivos análisis a cuatro muestras de suelo que contienen microorganismos, extraídos todos de suelos con plantas de café creciendo sobre ellos.

#### 3.1. Análisis del entorno natural de la zona radicular del café

El volumen de suelo que rodea las raíces en su entorno natural fue analizado para determinar las características en que se desarrolla el sistema radicular, los microorganismos presentes, la cantidad de microorganismos en el rizoplasma y la rizosfera, y el potencial hidrógeno de cada muestra.

##### 3.1.1. Reacción (pH)

Los valores de pH encontrados en esta zona (Gráfico 1-3), se ubican en promedio entre 5,6 y 6,1 catalogados como: próximos a la neutralidad, valores adecuados para el crecimiento de las plantas de café, debido a que por sus condiciones se muestran disponibles la mayor parte de los nutrientes que la planta necesita para su desarrollo, generando además, un buen ambiente para el crecimiento de los microorganismos, los mismos que ayudarán a mejorar la disponibilidad y transformación de los nutrientes (Cisneros et al., 2016, p. 105), factores que contribuyen con el crecimiento y desarrollo de vegetal y por ende, los rendimientos del cultivo.



**Gráfico 1-3:** Reacción (pH) m Plantas seleccionadas las muestras de plantas de café

Realizado por: Luzuriaga, Carla, 2021.

### 3.1.2. *Microorganismos presentes*

Se evaluaron los microorganismos que se encuentran presentes de manera natural en estos suelos, para lo cual se hizo un muestreo in situ y la estimación de la densidad poblacional, determinando y caracterizando los microorganismos benéficos y los organismos patógenos que se encuentran en la rizósfera y rizoplano del cultivo de café.

### 3.1.3. *Cantidad de microorganismos*

Para la determinación de la cantidad de microorganismos, se colectaron varias muestras de suelo, realizando el conteo de colonias, cuyos resultados se muestran a continuación, tabla 1-3, de las cuatro muestras diferentes con la siguiente catalogación (planta joven bajo sombra, planta adulta con enfermedades, planta en producción aparentemente sana, planta joven sana), codificadas como CL 001, CL002, CL 003, CL 004, respectivamente.

**Tabla 1-3:** Cantidad de microorganismos presentes en la zona radical de suelos

Zona	CL 001	CL 002	CL 003	CL 004
Rizoplano	39,00 UFC/g	20,25 UFC/g	58,00 UFC/g	125,00 UFC/g
Rizósfera	25,50 UFC/g	30,00 UFC/g	47,25 UFC/g	87,25 UFC/g

Realizado por: Luzuriaga, Carla, 2021.

De acuerdo a los resultados, se observó que la cantidad de microorganismos, se presenta en mayor cantidad en el rizo plano, como es en el CL 001, que representa una planta joven bajo sombra la cantidad de 39 UFC/g; en el CL 002 que representa una planta adulta con enfermedades y plagas la cantidad de 20,25 UFC/g, en el CL 003 que se codifica a una planta en producción aparentemente sana con 58 UFC/g y finalmente la muestra CL 004 que muestra una planta joven aparentemente sana con 125 UFC/g, caracterizando a los microorganismos como mesófilos los cuales se desarrollan de mejor manera en suelos con pH cercanos a la neutralidad o menos ácidos, pudiendo tolerar la acidez (Hernández et al, 2017, pp. 55) y seguir desarrollándose en suelos más ácidos pero en menor cantidad, indicando además que el desarrollo del biocatalizador deberá tener la característica de producto neutro.

### 3.1.4. *Microorganismos encontrados*

Una vez determinada la presencia de microorganismos en el suelo se procedió a identificar a través de pruebas de ELISA, encontrándose una cantidad importante de organismos como son: *Fusarium tabacinum*, *Hormicium* sp., *Fusarium moniliformi*, *Pseudomonas fluorescens*, que

aportan de manera significativa a los procesos edáficos, que catalizan una serie de reacciones, contribuyendo a fijar o solubilizar nutrientes que serán utilizados por los vegetales.

Esta identificación nos permitió verificar que tipo de microorganismos se encuentran desarrollándose de manera natural y que pueden ser luego inoculados en el suelo, para el repoblamiento y generación de efectos benéficos.

Basados en los resultados de estos análisis previos se realizó la selección del material más adecuado para el ensayo con las plántulas del vivero de café, es decir, se identificó al CL- 004, como muestra de una planta joven, la cual se encontraba en condiciones óptimas, aparentemente sana.

### **3.2. Variables analizadas en el ensayo**

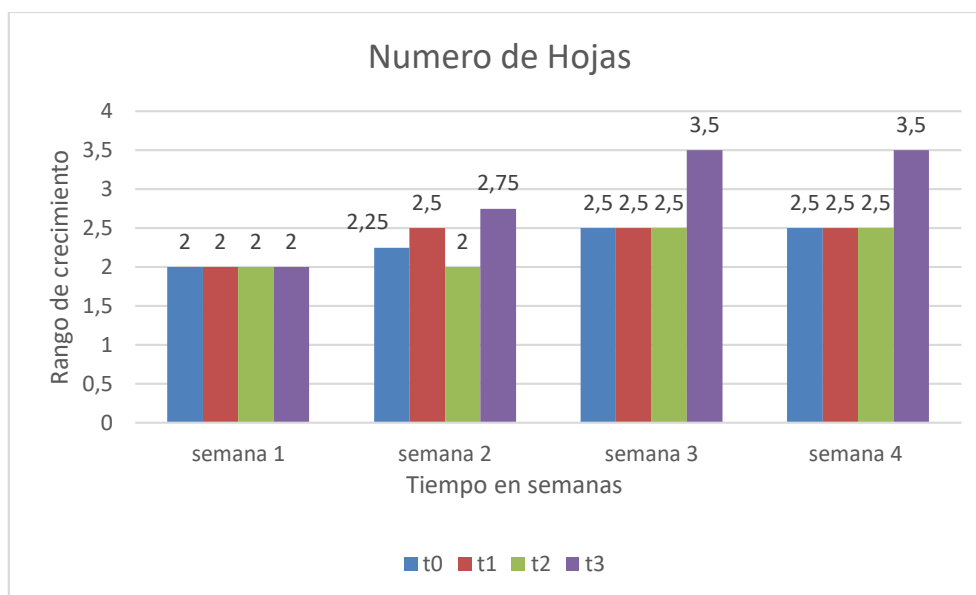
A continuación, se presenta las variables analizadas en la investigación como son: número de hojas por plántula (#), longitud del tallo expresado en (cm) y la longitud de las raíces, expresada igualmente en (cm), así como el análisis estadístico que se realizó en cada caso, el cual determinará y evaluará la prueba de medias.

#### **3.2.1. Número de hojas**

La aplicación de los biocatalizadores a más de mejorar la disponibilidad de los nutrientes que se encuentran en el suelo, para ser absorbidos directamente por los vegetales, también cumplen la función de aporte nutricional al ser aplicados al suelo o a nivel de forraje. Esto se evidencia en la fase de plántulas, en la cual el sistema radicular tiene la capacidad de absorber nutrientes del suelo, los cuales limitan o garantizan el crecimiento y desarrollo de los vegetales, optimizando el gasto energético inicial en el que incurren las plantas desde el proceso de germinación.

Para el desarrollo del área foliar se requiere, una vez que emergen las primeras hojas, se requiere un adecuado suministro nutricional, el cual garantice un óptimo crecimiento de todas las estructuras fisiológicas de los vegetales (Gráfico 2-3), lo cual es una muestra de la importancia de la composición del sustrato en que se desarrollan las plántulas, sumado la acción de los biocatalizadores que ayudan al desarrollo del cultivo, facilitando la labor de las raíces y la formación de nuevas hojas, con lo cual se acelera el crecimiento general del cultivo (Díaz et al., 2016, p. 29), lo que se puede apreciar en la figura, en la cual durante la primera semana el número de hojas es similar en todos los tratamientos; a partir de la segunda semana se observa una clara diferencia, la cual se hace más notoria en la cuarta semana, ya que los resultados ofrecidos por el tratamiento de 10 cm<sup>3</sup> supera todos los demás, seguido del tratamiento de 7,5 cm<sup>3</sup>, y el tratamiento testigo muestra los valores más bajos, lo cual coincide con otros investigadores que han utilizado

diferentes productos para mejorar el desarrollo de las plántulas (Abad, 2016, p. 90) y en los primeros días no se ha visto diferencias significativas.



**Gráfico 2-3:** Número promedio de hojas por plántula en cada tratamiento

Realizado por: Luzuriaga, Carla, 2021.

El gráfico (2-3) presenta diferencias significativas entre el tratamiento de T3 ( $10 \text{ cm}^3$ ) con relación al resto de los tratamientos T2 ( $7,5 \text{ cm}^3$ ), T1 ( $5 \text{ cm}^3$ ), T0 (testigo), de aplicación de biocatalizador, lo cual indica que la dosis aplicada genera efectos crecientes sobre las plántulas, es decir que dosis mayores de biocatalizador muestran una mejor respuesta, tal como reportan Terry et al., (2017, p. 147) indicando que se alcanza rápidamente los efectos esperados al aumentar la dosis desde T2 ( $7.5 \text{ cm}^3$ ) hasta T3 ( $10 \text{ cm}^3$ ).

Caso muy diferente a lo observado en las dosis menores, de T0 (testigo) a T1 ( $5 \text{ cm}^3$ ), ya que en dosis menores una muestra del accionar del biocatalizador es la acción de suplir un elemento o factor que está en condiciones de deficiencia o escasez, el cual afecta al normal desarrollo de la planta, característica que coincide con lo reportado por Valverde-Lucio et al. (2020, pp.18), usando bioinsumos para mejorar el crecimiento de las plántulas, se debe determinar las dosis mínimas de cada cultivo, sobre las cuales el producto aplicado actúe eficientemente, tal como sugiere (Tintayo, 2020, p. 60)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	3,922	3	1,307	3,260	0,028
Intersección	405,016	1	405,016	1009,909	0,000
Tratamiento	3,922	3	1,307	3,260	0,028
Error	24,063	60	0,401		

Total	433,000	64			
Total, corregida	27,984	63			

**Tabla 2-3:** Pruebas de los efectos inter-sujetos

**Realizado por:** Luzuriaga, Carla, 2021.

En la (Tabla 2-3) muestran que el tratamiento 3, cuya dosis es de (10 cm<sup>3</sup>), presenta diferencias significativas, según la prueba de Tukey, frente al resto de tratamientos, ya que cumple con el supuesto de significancia que es < 0.05.

**Tabla 3-3:** Prueba de medias para el número de hojas en los diferentes tratamientos

	Tratamiento	Códigos	N	Subconjunto	
				1	2
Prueba de Tukey	Testigo	To	16	2,3125	
	Dosis 5 cm <sup>3</sup>	T1	16	2,3750	2,3750
	Dosis 7,5 cm <sup>3</sup>	T2	16	2,4375	2,4375
	Dosis 10 cm <sup>3</sup>	T3	16		2,9375
	Sig			0,944	0,068

**Realizado por:** Luzuriaga, Carla (2021)

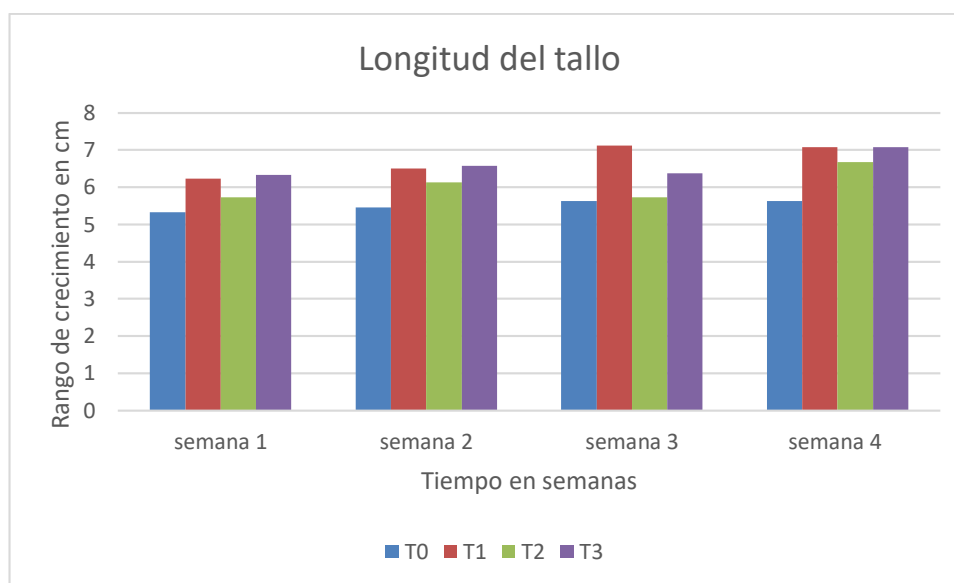
En la (tabla 3-3) se observa que la prueba de medias para la longitud de la raíz, existe una diferencia significativa con la dosis T3, cuya dosis es de (10 cm<sup>3</sup>), ya que presenta un mayor incremento en la comparación de las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos que presentaron los tratamientos T0, T1, T2. Cumpliendo con el supuesto de significancia.

### 3.2.2. Longitud del tallo

La longitud del tallo nos muestra la velocidad con la que crece la planta a nivel de vivero, (Peña y Cely, 2011, p. 81). En el gráfico 3-3 observamos el desarrollo de la altura del tallo, en el cual el tratamiento testigo T0 se mantiene por debajo del resto de los tratamientos, incluso desde la primera semana de evaluación, y el tratamiento T3, cuya dosis es (10 cm<sup>3</sup>) y el T2 (7,5 cm<sup>3</sup>) se mantienen en general como los mejores, lo cual indica la acción del biocatalizador, ya que mediante la acción de la radiación solar y la provisión de agua el vegetal en esta estructura generará la fortaleza y sostén para la planta, lo cual determinará en el futuro la capacidad del vegetal para soportar tanto las hojas como los frutos y las variaciones de las condiciones climáticas que enfrentará una vez que esté en campo.

Es importante destacar que aun cambios pequeños en la longitud del tallo pueden producir importantes diferencias en el desarrollo posterior de la planta, relacionado directamente con el

aumento en el grosor y peso de la planta (Peña y Cely, 2011, p. 81), lo que permite tener mejores condiciones en la competencia por los recursos nutricionales en el campo después del trasplante.



**Gráfico 3-3:** Longitud del tallo (cm) promedio por plántula en cada tratamiento

**Realizado por:** Luzuriaga, Carla, 2021.

El análisis estadístico muestra diferencias altamente significativas, para el tratamiento T3 (10 cm<sup>3</sup>) de aplicación del biocatalizador, que mostraron valores altos en el crecimiento del tallo (Tabla 5-3); sin embargo, estos resultados difieren de los obtenidos por Ochoa et al. (2017, p. 10), quienes encontraron que la utilización de ácidos húmicos y fúlvicos no mostraron diferencias en el crecimiento del tallo, en las dosis utilizadas. Sin embargo, también es necesario tener presente que este producto también puede incidir en otros parámetros como el grosor del tallo, lo cual puede encubrir el efecto que sobre el crecimiento del mismo.

**Tabla 5-3:** Pruebas de los efectos inter-sujetos

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	16,409	3	5,470	12.436	0,000
Intersección	2495,002	1	2495,002	5672,878	0,000
Tratamiento	16,409	3	5,470	12,436	0,000
Error	26,389	60	0,440		
Total	2537,800	64			
Total, corregida	42,797	63			

**Realizado por:** Luzuriaga, Carla, 2021.



En la tabla 6-3 se puede observar la prueba de medias para la longitud del tallo en cm, la cual nos indica que existe una diferencia significativa con la dosis T3 de 10 cm<sup>3</sup>, ya que presenta un mayor incremento en la comparación de las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos. Además, también presentando un rango mayor de crecimiento en comparación con las diferentes dosis.

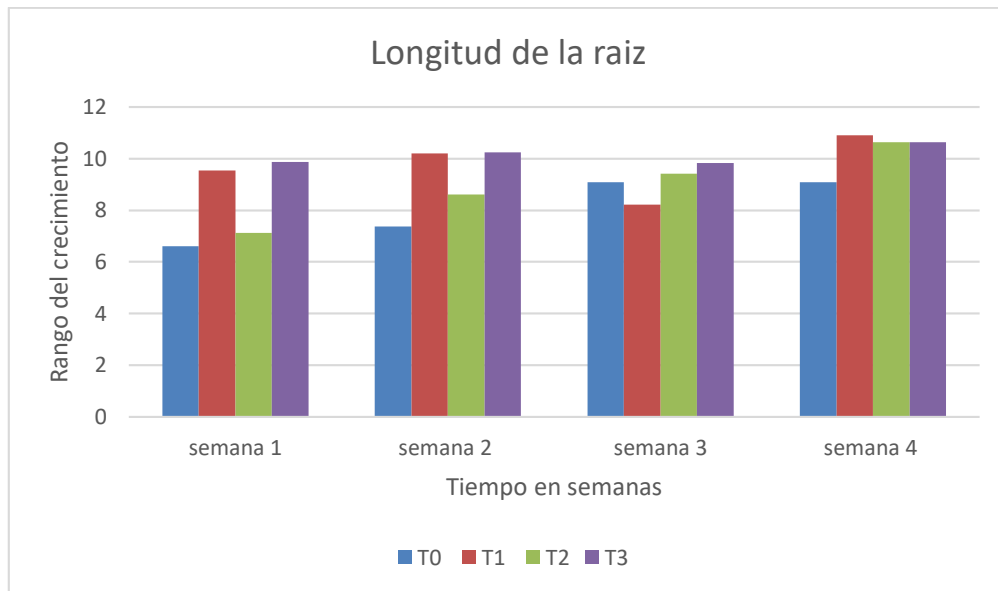
**Tabla 6-3:** Prueba de medias para la longitud del tallo (cm) en los diferentes tratamientos

	Tratamiento	N	Subconjunto		
			1	2	3
Prueba de Tukey	Testigo	16	5,5063		
	Dosis 5 cm <sup>3</sup>	16	6,0625	6,0625	
	Dosis 7,5 cm <sup>3</sup>	16		6,5875	6,5875
	Dosis 10 cm <sup>3</sup>	16			6,8188
	Sig.		0,944	0,124	0,758

Realizado por: Luzuriaga, Carla, 2021.

### 3.2.3. Longitud de la raíz

En la medición de la longitud de las raíces de las plántulas de café a nivel de vivero es posible observar diferencias, desde la primera semana de aplicación del biocatalizador (Gráfico 7-3), lo cual significa que la raíz absorbe los compuestos del biocatalizador, dotando al vegetal un desarrollo más vigoroso desde la base hacia las diferentes estructuras superiores de la planta, relación directa y equilibrada durante todo el ciclo fenológico del café, tal como indica Arcila, (2020, p. 30) por lo cual los efectos se notan de manera más temprana que en caso del crecimiento tanto del tallo como de las hojas.



**Gráfico 4-3:** Longitud de las raíces (cm) promedio por plántula en cada tratamiento

**Realizado por:** Luzuriaga, Carla, 2021.

En el gráfico se pudo observar que en la primera semana el crecimiento a nivel de raíz fue mayor en el tratamiento T3, cuya dosis es de 10 cm<sup>3</sup>, el mismo que se mantuvo durante la segunda semana, en la semana 3 se logró analizar valores similares en todos los tratamientos, sin embargo, el tratamiento testigo fue el que presentaba un menor crecimiento, continuando con T3 como el mejor tratamiento. En la cuarta semana las longitudes de las raíces variaron de manera significativa en comparación con el tratamiento testigo. Dicho tratamiento testigo a la dosis de 0 cm<sup>3</sup> a lo largo de las cuatro semanas, fue el que presentó un menor crecimiento con respecto a la raíz, por lo cual las diferencias entre el tratamiento testigo y el resto de los tratamientos aumentó las variaciones de longitud, por lo que al parecer el efecto de las diferentes dosis se diluye a partir de la cuarta semana, pero se hace más visible respecto al testigo que no tiene el beneficio proporcionado por el biocatalizador, similar al reportado por Lino (2020, p. 95) en sus estudios, y por Franco (2018, p. 67), que muestran un efecto sobre el crecimiento de la raíz, proporcionando una ventaja comparativa con respecto al desarrollo de otras plantas, mejorando su capacidad de desarrollo y supervivencia.

**Tabla 7-3:** Pruebas de los efectos inter-sujetos

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	55,976	3	18,659	3,861	0,014
Intersección	6048,951	1	6048,951	1251,707	0,000
Tratamiento	55,976	3	18,659	3,861	0,014
Error	289,954	60	4,833		
Total	6394,880	64			
Total, corregida	345,929	63			

Realizado por: Luzuriaga, Carla, 2021.

El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre los tratamientos, particularmente entre los tratamientos testigo y el tratamiento de 10 cm<sup>3</sup>, siendo menor el tratamiento testigo (Tabla 7-3). Es interesante destacar que estadísticamente los tratamientos a los que se aplicó el biocatalizador mostraron un resultado similar entre ellos, por lo cual forman un grupo indiferenciado, y tratamiento de 5 cm<sup>3</sup> conforman a su vez otro grupo indiferenciado o subconjunto con el tratamiento testigo, indicando que no hay diferencia entre los tratamientos testigo y de 5 cm<sup>3</sup>, y ambos son diferentes a los tratamiento de 7,5 y 10 cm<sup>3</sup>, pero la diferencia entre los dos subgrupos es suficientemente grande para constituirse en una diferencia estadísticamente significativa. Es interesante destacar que, aunque la prueba de Tukey indica que el resultado del testigo es similar al tratamiento de 5 cm<sup>3</sup>, la prueba de Duncan dice que son diferentes y que este a su vez es igual que los tratamientos de 7,5 y 10 cm<sup>3</sup>, por lo que el uso del biocatalizador aun en las menores dosis usadas produce un mejor desarrollo de las raíces. Esta diferencia puede ser debida al vigoroso crecimiento inicial del este tratamiento, que mostró diferencias muy importante ya en la primera semana, y esto puede constituir una diferencia importante en la calidad final de las plántulas, debido a que mejoran la capacidad de absorción y de sustentación, con lo que su desarrollo general permitirá un mejor comportamiento cuando este en campo, tal como expresan Viñals-Núñez et al. (2017, p. 35) en el sentido de resultar económicamente beneficiosos al representar ahorros y obtener plantas con buen desarrollo que tendrán un adecuado comportamiento al ser trasplantadas, resistiendo mejor el proceso, con un mejor desarrollo tanto de la parte aérea como la radical (González y Castro, 2009, pp. 6).

El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre los tratamientos, particularmente entre el tratamiento de 10 cm<sup>3</sup>, cumpliendo con el supuesto de significancia de Tukey < 0,05

**Tabla 7-3:** Prueba de medias para la longitud de la raíz (cm) en los diferentes tratamientos

	Tratamiento	N	Subconjunto	
			1	2
Prueba de Tukey	Testigo	16	8,1625	
	Dosis 5 cm <sup>3</sup>	16	9,8438	9,8438
	Dosis 7,5 cm <sup>3</sup>	16		10,3438
	Dosis 10 cm <sup>3</sup>	16		10,5375
	Sig.		0,145	0,809

Realizado por: Luzuriaga, Carla, 2021.

En la tabla 7-3 se puede observar la prueba de medias para la longitud de la raíz, la cual nos indica que existe una diferencia significativa con la dosis de 10 cm<sup>3</sup>, ya que presenta un mayor incremento en la comparación de las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

## CONCLUSIONES

- En el análisis a nivel rizosférico se obtiene que la mejor muestra para la formulación del biocatalizador es la de la planta joven, debido a que presenta las condiciones óptimas para su crecimiento, siendo una planta joven que se aparentemente se encontraba sana.
- Dentro de la formulación del biocatalizador desarrollado para plantas de café a nivel de vivero, contiene las siguientes características y los siguientes microorganismos identificados *Fusarium tabacinum*, *Hormicium sp.*, *Fusarium moniliformi*, *Pseudomonas fluorescens*.
- La aplicación del biocatalizador demostró efectos significativos sobre la variable del número de hojas, analizadas en las plántulas de café a nivel de vivero, resultando el mejor tratamiento el T<sub>3</sub>, que representa una dosis de 10 cm<sup>3</sup>, debido a que el biocatalizador facilita la absorción de los nutrientes hacia los vegetales.
- En cuanto a la variable longitud del tallo se evidencio efectos significativos con el tratamiento T<sub>3</sub>, el cual contiene una dosis de 10 cm<sup>3</sup>, dotando a las plantas de firmeza y crecimiento longitudinal.
- En el análisis de la variable longitud de la raíz, muestra efectos significativos el tratamiento T<sub>3</sub>, el cual representa una dosis de 10 cm<sup>3</sup>, favoreciendo además el crecimiento radicular y una mejor absorción de agua y nutrientes para las plantas.

## **RECOMENDACIONES**

- Hacer evaluaciones con dosis mayores y frecuencias continuas de aplicación de biocatalizadores, considerando que al aumentar la dosis se evidenciaron mejores resultados y diferencias significativas en el estudio.
- Incluir la medición del análisis multiparamétrico de componentes químicos a nivel de los vegetales estudiados, con la finalidad de constatar si existen cambios y aportes sustanciales en las concentraciones de los nutrientes en las plantas.
- Continuar la evaluación de las plántulas hasta después de su trasplante para conocer los efectos de estos cambios en condiciones de campo.
- Evaluar la combinación de los biocatalizadores con otras medidas de manejo agroecológico del café, con la finalidad de ofrecer una alternativa más completa de manejo al agricultor.

## **BIBLIOGRAFÍA**

**ABARCA, J.L. y ARMENDÁRIZ, D.C.** Estudio de la cadena productiva de café de altura en la parroquia la carolina, cantón ibarra, provincia de imbabura (Tesis) (Ingeniería). Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. 2014, pp. 2-68.

**ACOSTA, D.V. y FUENTES, J.** Adaptación de dos variedades de café robusta ( Coffea canephora ) con fuentes diferentes de fertilizantes en el primer año del cultivo (Trabajo de Titulación) (Ingeniería) . Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. 2017, pp. 2-49.

**ADRIANO, M., JARQUÍN, R., HERNÁNDEZ, C., FIGUEROA, M. y MONREAL, C.** "Biofertilización De Café Orgánico En Etapa De Vivero En Chiapas, México". *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 2, nº. 3 (2011), (México), pp. 417-431.

**ALCANTARA, B.F.** "Observaciones Sobre el Comportamiento del cultivar (catuai) (coffea arabica) en Costa Rica". *Revista Ciencias Agrícolas*, vol. 2, nº. 2 (1990), (Costa Rica), pp. 163-166.

**ALTAMIRANO, E.** "Uso de Micorrizas en el Cultivo de Piña". *Instituto para la Innovación Tecnológica en la Agricultura*, vol. 2, nº. 47 (2018), (México), pp. 2016-2019.

**ALULIMA, M.** Alternativas Agroecológicas para el manejo del café (coffea arabica) (Trabajo de Titulación) (Ingeniería). Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador. 2012, pp. 1-32.

**AMORES, F., DUICELA, L., CORRAL, R., GUERRERO, H., VASCO, S., MOTATO, N., SOLÓRZANO, G., ZAMBRANO, L., AVEIGA, T. y GUEDES, R.** *Variedades mejoradas de café arábigo una contribución para el desarrollo de la caficultura en el Ecuador*. Quevedo, Ecuador: INIAP, 2004, pp. 33-36.

**ANDIA, E.** Comportamiento en vivero de nueve variedades de café injertadas sobre coffea canephora en san ramón (chanchamayo) (Tesis) (Ingeniería). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. 2016, pp. 3-40.

**ARCILA, J., FARFÁN, F., MORENO, A., SALAZAR, L. y HINCAPIÉ, E.** *Sistemas de producción de café en Colombia*. Caldas, Colombia: Editorial Blanecolor Ltda, 2007, pp. 4-60.

**ARCILLA, J.** "Crecimiento y desarrollo de la planta de café". *Sistemas de producción de café en Colombia*, vol. 1, n°. 1 (2007), (Colombia), pp. 22-60.

**ARIAS, L.D.** Propuesta de mejoramiento en el manejo del cultivo de café en el barrio Cango Viejo parroquia Mercadillo cantón Puyango (Tesis) (Ingeniería). Universidad Nacional de Loja. Loja, Ecuador. 2018, pp.

**ARROYO, M., ACEBAL, C. y DE LA MATA, I.** "Biocatálisis y biotecnología". *Ciencia, Pensamiento y Cultura*, vol. 190, n°. 768 (2014), (España), pp. 1-11.

**CALDERÓN, J.** Evaluación del impacto ambiental por uso inadecuado de fertilizantes químicos en cultivo de maíz de la Parroquia el Anegado. Propuesta De Manejo Ambiental (Tesis) (Maestría). Universidad De Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. 2015, pp.1-52.

**CALVACHE, M.** "Física de suelos y su relación con los problemas ambientales". *Ciencias del Suelo*, vol. 1, n°. 1 (2010), (Ecuador), pp. 17-19.

**CANO, M.A.** "Interacción de microorganismos benéficos en plantas : micorrizas , trichoderma spp . y pseudomonas a review of interaction of beneficial microorganisms in plants : mycorrhizae , trichoderma spp . and pseudomonas spp" . *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.*, vol. 14, n°. 2 (2011), (Colombia), pp. 15-31.

**CASTAÑEDA, M.** Obtención, caracterización y aplicación de un biocatalizador para la reducción del contenido de fenilalanina en hidrolizados proteicos (Tesis de doctorado) (ingeniería). Universidad Técnica Particular de Loja. Loja Ecuador. 2016, pp.2-50.

**CHAVES, V.** "Manejo de la fertilización en café". *Revista Informativa*, vol. 1, n°. 1 (1999), (Costa Rica), pp. 163-173.

**CUENCA, D.** Estudio de la fertilización orgánica sobre algunas propiedades químicas del suelo y el desarrollo fenológico del cultivo de café (Trabajo de Titulación) (Ingeniería). Universidad Técnica Particular de Loja. Loja, Ecuador. 2016, pp. 2-70.

**DIAZ, L. y IZA, C.** Aislamiento y caracterización de microorganismos biocatalizadores de ceniza volcánica en suelos agrícolas de tungurahua (Trabajo de Titulación) (Ingeniería). Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. 2017, pp. 2-60.



**DUICELA, L., CORRAL, R., AMORES, F. y GUERRERO, H.** *Crianza de plantulas de café en el vivero*. Quevedo, Ecuador: INIAP, 2004, pp. 33-36.

**ENRIQUEZ, M.** Elaboración y evaluación de un medio de cultivo sólido a partir de quinua, chenopodium quinoa, para la producción del hongo lentinus spp (Trabajo de Titulación) (Ingeniería). Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. 2016, pp. 10-43.

**ESTELITA, S.** Comportamiento en vivero de seis variedades de café injertadas sobre Coffea canephora var (Tesis) (Ingeniería). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú. 2016, pp. 3-36.

**FERNANDEZ, J.C.** Efecto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en el cultivo de café (Coffea arabica L. var. Típica) en sus primeros estadios de su desarrollo (Tesis) (Ingeniería). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú. 2015, pp. 2-70.

**FERNANDEZ, L., ROJAS, N., ROLDAN, T., RAMÍREZ, M., HÉCTOR, Z., HERNANDEZ, R., REYES, R., HERNANDEZ, D. y ARCE, J.** *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados*. Coyacan, México: SEMARNAT, 2006, ISBN 968-489-039-7, pp. 5-70.

**FERNANDEZ, V.G. y HERNAIZ, M.J.** "Biocatálisis aplicada. Las enzimas como herramientas útiles en síntesis orgánica". *Anales de Química*, vol. 113, nº. 1(2017), (España), pp. 27-35.

**GALARRAGA, B.** Respuesta del fréjol (phaseolus vulgaris l.) a la aplicación de un fertilizante orgánico con base en cola de zorro (myriophyllum aquaticum (vell) verdc.) (Trabajo de titulación) (Ingeniería). Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. 2018, pp. 1-51.

**GALLARDO, F. y GONZALEZ, O.** *Manejo Integrado de la Broca del Café en Puerto Rico*. Mayaguez, Puerto Rico: Estación Experimental Agrícola, 2007, pp. 1-15.

**GARCÍA, E.** *Prácticas de microbiología*. Loja, Ecuador :Universidad Técnica Particular de Loja, 2010, pp. 2-45.

**GUILCAPI, E.** Efecto de trichoderma harzianum y trichoderma viride, en la producción de plantas de café (coffea arábica) variedad caturra a nivel de vivero (Tesis) (Ingeniería). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 2009, pp. 3-50.

**HERNÁNDEZ, E., TREJO, D., RIVERA, A. y FERRERA, R.** "La micorriza arbuscular como biofertilizante en cultivo de café". *Terra Latinoamericana*, vol. 38, n°. 3 (2020), (México), pp. 613-628.

**HIGA, T. y PARR, J.** *Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment*. Maryland, Estados Unidos: Agricultural Research Service, 1991, pp. 2-20.

**HUMERES, C.** Evaluación de la capacidad biocontroladora de dos cepas nativas de *Trichoderma* ssp. sobre aisladoa de hongos basidiomycetes asociados a muerte de brazos en kiwi (Tesis) (Ingeniería). Universidad de Talca. Talca, Chile. 2004, pp. 22-56.

**IDIAF, I.D. de I.A. y F.** *Fertilización en café: resultados de investigación*. Santo Domingo, Ecuador: IDIAF, 2012, ISBN 9789945448191, pp. 2-86.

**IZQUIERDO, J.** Contaminación de los suelos agrícolas provocados por el uso de los agroquímicos de la parroquia San Joaquín (Trabajo de Titulación) (Ingeniería). Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador. 2017, pp. 5-67.

**JAYA, M.G.** Análisis sobre la incidencia de la roya del café (*Hemileia vastatrix*) en la productividad del cafetal en la zona agrícola de la Isla Santa Cruz (Trabajo de Titulación) (Licenciatura). Galápagos. Universidad Central del Ecuador Sede Galápagos. Puerto Ayora, Ecuador. 2017, pp.

**JIMÉNEZ, E.R. y CARRIL, E.P.** "Café I ( *G . Coffea* )". *Serie Botánica*, vol. 7, n°. 2 (2014), (España), pp. 113-132.

**LODEIRO, A.** *Catálisis enzimática Fundamentos químicos de la vida*. La Plata, Argentina: Editorial de la Universidad de la Plata, 2015, pp. 8-209.

**MARÍN, G.** *Producción de cafés especiales*. Lima, Perú: FONDOEMPLEO, 2012, ISBN 9786124043413, pp. 2-60.

**MARTÍNEZ, B., INFANTE, D. y REYES, Y.** "Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos". *Rev. Protección Veg*, vol. 28, n°. 1(2013), (Cuba), pp. 1-11.

**MAULANA, M.S.R.** Selección de cultivares promisorios de café *coffea arabica* l. basado en resistencia a roya del café *hemilela vastatrix* & br. in vitro y en condiciones de campo en zonas

cafetaleras de guatemala c.a (Tesis) (Ingeniería). Universidad de San Carlos de Guatemala. Villa Nueva, Guatemala. 2017, pp. 2-70.

**MENDOZA, J.** *Plagas del cafeto . Guía para su reconocimiento y control*. Quevedo, Ecuador: INIAP, 1988, pp. 1-22.

**MENESES, N.** Evaluación de la producción de Plantines de tres variedades de Café (*Coffea arabica* L.) bajo tres tipos de sustratos en Los Yungas De la Paz (Tesis)(Ingeniería). Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia. 2012, pp. 4-30.

**PILATASIG, M. y LUNA, R.** Respuesta agronómica de plantas de café arábica (*coffea arábica*) a la aplicación de abonos edáficos y foliares (Tesis) (Ingeniería). Universidad Técnica De Cotopaxi Facultad. La Maná, Ecuador. 2017, pp. 10-80.

**PINZON, A** "Pseudomonas Pseudomonas". *Acata Médica Colombiana*, vol. 44, nº. 1 (2019), (Colombia), pp. 51-52.

**POZO, A.C.** Análisis de los factores que inciden en la producción de café en el Ecuador 2000 – 2011 (Tesis) (Economista). Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador. 2014, pp. 2-80.

**RAMIREZ, Y.A.** Desarrollo de biocatalizadores inmovilizados y su aplicación en la industria alimentaria y ambiental (Tesis) (Ingeniería). Universidad Nacional de Quilmes. Quilmes, Argentina. 2018, pp. 2-150.

**RODRÍGUEZ, A., SUÁREZ, S. y PALACIO, D.** "Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud". *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, vol. 52, nº. 3 (2014), (Cuba), pp. 372-387.

**ROMERO, L.L.** Manejo para la producción agroecológica del cultivo de café ( *coffea arabica* l ) en el sector san pedro, centro poblado menor de cesara, distrito de namballe del Peru (Tesis) (Ingeniería). Universidad Nacional de Loja. Loja, Ecuador. 2017, pp. 2-55.

**SANA, A.V.** *Microorganismos del suelo y biofertilización*. Barcelona, España: Asociación Vida Sana, 2010, pp. 1-30.

**SANZ, S.** *Prácticas de microbiología*. Logroño, España: Universidad de la Rioja, 2011, ISBN 9788469408704, pp. 2-93.

**SCHWEIZER, S.** *Muestreo y análisis de suelos para diagnóstico de fertilidad*. San José, Costa Rica: INTA/MAG, 2011, ISBN 978-9968-586-08-5, pp.5-17.

**SENASICA.** *Ojo de gallo Mycena citricolor ( Berkeley & Curtis )*. Coyoacán, México: SAGARPA, 2014, ISBN 9786077152514, pp. 2-15.

**SOTOMAYOR, I. y DUICELA, L.** *Control integrado de las principales enfermedades foliares del cafeto en el Ecuador*. Quevedo, Ecuador: INIAP, 1995, pp. 5-77.

**VILLACIS, P. y TITO, A.** Comportamiento agrónomico de cinco variedades de café (Coffea arabica L.), sometido a diferentes aplicaciones foliares de Biol (Tesis) (Ingeniería). Universidad de las Fuerzas Armadas. Santo Domingo, Ecuador. 2016, pp. 5-55.

**YUGSI, L.** *Elaboración y Uso de Abonos Orgánicos. Módulos de Capacitación para Capacitadores. Módulo V*. Quito, Ecuador: INIAP, 2011, pp. 5-40.

ZHANG, S.J., BRUYN, F, POTHAKOS, V., TORRES, J., FALCONI, C., MOCCAND, C., WECKX, S. y VUYST, L. "Crossm Following Coffee Production from Cherries to Cup : Microbiological and Metabolomic Analysis of Wet Processing". *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 85, n°. 6 (2019), (Ecuador), pp. 1-22.

## ANEXOS

### ANEXO A: TOMA DE LA MUESTRA RIZOSFÉRICA DE LAS PLANTAS DE CAFÉ (*Coffea arabica*)



### ANEXO B: ELABORACIÓN ROOT PRINT



## ANEXO C: CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS



## ANEXO D: REJILLAS DE ELIZAS PARA IR AL ESPECTOFOTOMETRO





## ANEXO E: BIOCATALIZADOR EMBAZADO



## ANEXO F: COLOCACIÓN DEL BIOCATALIZADOR



**ANEXO G:** EVALUACIÓN INICIAL DE LAS PLANTAS DE CAFÉ (*Coffea arabica*)



**ANEXO H:** EVALUACIÓN FINAL DEL BIOCATALIZADOR EN LAS PLANTAS DE CAFÉ (*Coffea arabica*)





# ANEXO I: Certificado de Cumplimiento de Normativa



**esPOCH** | Dirección de Bibliotecas y Recursos del Aprendizaje

## UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

### REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 28 / 06 / 2022

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Carla Jhamilex Luzuriaga Chacón
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Ingeniería Ambiental
<b>Título a optar:</b> Ingeniera Ambiental
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.

LEONARDO  
FABIO  
MEDINA  
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE  
Nombre de reconocimiento (DN):  
c=EC, o=BANCO CENTRAL DE  
ECUADOR, ou=ENTIDAD DE  
CERTIFICACION DE INFORMACION  
TECNICA, email=leonardo.fabio.medina.nuste@esPOCH.edu.ec,  
serialNumber=000001488,  
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE  
Fecha: 2022.06.28 17:28:27 -05'00'



1351-DBRA-UTP-2022