

# UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
FACULTAD DE POSGRADO

INFORME DE INVESTIGACIÓN  
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

**MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**

**TEMA:**

EFFECTO DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN LA CHICHA DE JORA  
FERMENTADA PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE MALEZAS EN SISTEMAS  
AGRÍCOLAS SOSTENIBLES

**Autor:**

YUMBAY CACUANGO YAURI ANDRES

**Director:**

Dr. GUSTAVO ELIAS MARTINEZ VALENZUELA

*Milagro, 2025*

## Derechos de autor

**Sr. Dr.  
Fabricio Guevara Viejó**  
Rector de la Universidad Estatal de Milagro  
Presente.

Yo, **Yumbay Cacuango Yauri Andres** en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación **Innovación Tecnológica en procesos de Producción Agropecuaria** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 22 de junio del 2025

**Yumbay Cacuango Yauri Andres**  
**0250297199**

## Aprobación del tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **Martínez Valenzuela Gustavo Elías** en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por Yumbay Cacuangó Yauri Andrés, cuyo tema es: **Efecto de los microorganismos presentes en la chicha de jora fermentada para el control biológico de malezas en sistemas agrícolas sostenibles**, que aporta a la Línea de Investigación **Innovación Tecnológica en procesos de Producción Agropecuaria**, previo a la obtención del Grado **Magíster en Biotecnología**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, **22 de junio del 2025**

**Gustavo Elías Martínez Valenzuela**  
CI: 0922079595

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
**FACULTAD DE POSGRADO**  
**ACTA DE SUSTENTACIÓN**  
**MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

En la Facultad de Posgrado de la Universidad Estatal de Milagro, al uno día del mes de septiembre del dos mil veinticinco, siendo las 10:00 horas, de forma VIRTUAL comparece el/la maestrante, ING. YUMBAY CACUANGO YAURI ANDRES, a defender el Trabajo de Titulación denominado " EFECTO DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN LA CHICHA DE JORA FERMENTADA PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE MALEZAS EN SISTEMAS AGRÍCOLAS SOSTENIBLES ", ante el Tribunal de Calificación integrado por: Mgs. BARZALLO GRANIZO DIEGO GEOVANNY, Presidente(a), Mae. GUILLEN BONILLA ALEX EDWIN en calidad de Vocal; y, Ph.D. VALENZUELA COBOS JUAN DIEGO que actúa como Secretario/a.

Una vez defendido el trabajo de titulación; examinado por los integrantes del Tribunal de Calificación, escuchada la defensa y las preguntas formuladas sobre el contenido del mismo al maestrante compareciente, durante el tiempo reglamentario, obtuvo la calificación de: 97.00 equivalente a: EXCELENTE.

Para constancia de lo actuado firman en unidad de acto el Tribunal de Calificación, siendo las 11:00 horas.



DIEGO GEOVANNY  
BARZALLO GRANIZO  
Titular Documento con Firmado

Mgs. BARZALLO GRANIZO DIEGO GEOVANNY  
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



ALEX EDWIN GUILLEN  
BONILLA  
Titular Documento con Firmado

Mae. GUILLEN BONILLA ALEX EDWIN  
VOCAL



JUAN DIEGO  
VALENZUELA COBOS  
Titular Documento con Firmado

Ph.D. VALENZUELA COBOS JUAN DIEGO  
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL



YURI ANDRES YUMBAY  
CACUANGO  
Titular Documento con Firmado

ING. YUMBAY CACUANGO YAURI ANDRES  
MAGISTER

## DEDICATORIA

Este trabajo de investigación va dedicado a mis padres: Gerardo y Rosa; cuyo apoyo, paciencia y amor incondicional fueron muy indispensables en mi formación académica y personal. Gracias por creer en mí, aún en los momentos en los que yo mismo dudaba.

A mi director de tesis, Dr. Gustavo Martínez, por su orientación, conocimiento y compromiso, así como a todos aquellos profesores y compañeros que contribuyeron a mi crecimiento durante este trayecto académico.

Finalmente, dedico este logro a todas aquellas personas que, con su cariño, aliento, hicieron posible este momento, a todos, que estuvieron presentes en cada paso de este trayecto de mi camino.

## AGRADECIMIENTOS

En la culminación de esta etapa tan importante de mi formación profesional, expreso mi más profundo agradecimiento a todas las personas e instituciones que, de diversas maneras, hicieron posible la realización de este trabajo de investigación.

En primer lugar, agradezco profundamente a mis padres, Gerardo y Rosa; por su amor incondicional, apoyo constante y enseñanzas que han sido guía fundamental en mi trayectoria académica y personal, ya que, sin su sacrificio permanente, este logro no habría sido posible. A mis hermanas y hermanos, cuyo cariño, comprensión y compañía han sido una fuente de fortaleza durante los momentos más desafiantes de este proceso. Asimismo, extendiendo mi gratitud a toda mi familia, quienes siempre han estado presentes con su ánimo y afecto en cada etapa de mi formación.

De manera muy especial, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi tutor académico, Dr. Gustavo Martínez, por su paciencia, compromiso, valiosas sugerencias y acompañamiento constante durante la elaboración de este trabajo. Su guía ha sido esencial para culminar exitosamente este proyecto de investigación.

Un reconocimiento especial a los docentes de la Maestría en Biotecnología, cuyo conocimiento, experiencia, orientación han enriquecido significativamente mi aprendizaje y desarrollo académico durante esta etapa. Agradezco a la Universidad Estatal de Milagro, institución que me brindó la oportunidad de cursar la Maestría en Biotecnología, ofreciéndome las bases necesarias para consolidar mi formación profesional y académica.

Asimismo, reconozco la hospitalidad y el apoyo recibido por parte de la Universidad Estatal de Bolívar, donde se llevó a cabo la parte experimental de esta investigación. Su infraestructura y recursos fueron fundamentales para el desarrollo práctico del presente trabajo.

Finalmente, quiero agradecer a la Universidad Estatal de Bolívar por permitirme realizar el trabajo experimental, a los técnicos del laboratorio de Vicerrectorado de Investigación y Vinculación que me guiaron, apoyaron en todo el proceso, mi sincero agradecimiento por su paciencia, experticia y valiosa ayuda.

## Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de los microorganismos presentes en la chicha de jora fermentada para el control biológico de malezas en sistemas agrícolas sostenibles. El estudio se centró en la caracterización microbiana y la actividad bioherbicida de las muestras de chicha de jora, bajo un diseño descriptivo y experimental. La metodología incluyó el aislamiento de microorganismos mediante siembra por estrías en Nutri Agar (NA), Agar MRS y Agar Dextrosa Sabouraud (SDA), precedido por preenriquecimiento en Buffered Peptone Water (BPW). La caracterización inicial se realizó a través de observaciones macroscópicas y microscópicas (Tinción de Gram). Un ensayo preliminar de campo evaluó el potencial bioherbicida aplicando directamente la chicha de jora en una parcela de 1 m<sup>2</sup>. Los resultados microbianos mostraron diversidad: en Nutri Agar, se observó crecimiento diverso de bacterias Gram positivas (bacilos), sugiriendo *Lactobacillus spp.* Agar MRS confirmó la predominancia de *Lactobacillus spp.* En SDA, se aislaron levaduras (células ovaladas con gemación) y bacterias Gram negativas (bacilos), presuntivamente *Saccharomyces cerevisiae* y *Acetobacter spp.* El ensayo de campo demostró la efectividad bioherbicida de la chicha de jora fermentada. Tras cinco días, se observó la muerte de malezas como *Rumex crispus*, *Galinsoga parviflora*, *Digitaria sanguinalis* y *Trifolium repens*. Se postula que el efecto se debe a los microorganismos y metabolitos y el ácido acético. En conclusión, se aislaron, caracterizaron microorganismos de la chicha de jora con actividad catalasa positiva. Se comprobó el potencial bioherbicida de la chicha de jora fermentada sobre malezas comunes, estableciendo una base para futuras investigaciones.

Palabras clave: Control biológico, malezas, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acetobacter spp.*

## Abstract

The objective of this research was to evaluate the effect of microorganisms present in fermented chicha de jora for the biological control of weeds in sustainable agricultural systems. The study focused on the microbial characterization and bioherbicide activity of chicha de jora samples, under a descriptive and experimental design. The methodology included the isolation of microorganisms by streaking in Nutri Agar (NA), MRS Agar and Sabouraud Dextrose Agar (SDA), preceded by pre-enrichment in Buffered Peptone Water (BPW). Initial characterization was performed through macroscopic and microscopic observations (Gram staining). A preliminary field trial evaluated the bioherbicide potential by directly applying chicha de jora in a 1 m<sup>2</sup> plot. Microbial results showed diversity: in Nutri Agar, diverse growth of Gram-positive bacteria (bacilli) was observed, suggesting *Lactobacillus spp.* MRS Agar confirmed the predominance of *Lactobacillus spp.* On SDA, yeasts (oval cells with gemmation) and Gram-negative bacteria (bacilli) were isolated, presumably *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter spp.* The field trial demonstrated the bioherbicidal effectiveness of fermented chicha de jora. After five days, the death of weeds such as *Rumex crispus*, *Galinsoga parviflora*, *Digitaria sanguinalis* and *Trifolium repens* was observed. It is postulated that the effect is due to microorganisms and metabolites such as acetic acid. In conclusion, microorganisms with positive catalase activity were isolated and characterized from chicha de jora. The bioherbicidal potential of fermented chicha de jora on common weeds was proven, establishing a basis for future research.

Key words: Biological control, weed control, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acetobacter spp.*

## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Esquema del uso de la Chicha de Jora como fuente potencial de un bioherbicida .....	20
<b>Figura 2:</b> Observaciones macroscópicas .....	45
<b>Figura 3:</b> Microorganismos presuntivos.....	46
<b>Figura 4:</b> Observaciones macroscópicas Gram positivas .....	46
<b>Figura 5:</b> Microorganismos presuntivos <i>Lactobacillus spp.</i> .....	47
<b>Figura 6:</b> Observaciones macroscópicas Gram negativas .....	47
<b>Figura 7:</b> Microorganismos presuntivos: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y <i>Acetobacter spp.</i> .....	48
<b>Figura 8:</b> Prueba de Catalasa: Positivo .....	49
<b>Figura 9:</b> Área delimitada de 1 m <sup>2</sup> .....	51
<b>Figura 10:</b> Resultado de la aplicación del bioherbicida.....	52

## Lista de Tablas

<b>Tabla 1:</b> Operalización de variables .....	10
<b>Tabla 2:</b> Resultados del análisis .....	44
<b>Tabla 3:</b> Comparación entre los medios de cultivo .....	50

# Índice / Sumario

## Contenido

Introducción .....	1
CAPÍTULO I: El problema de investigación .....	3
1.1 Planteamiento del Problema .....	3
1.2 Delimitación del problema .....	4
1.3 Formulación del problema .....	6
1.4 Preguntas de investigación .....	6
1.5 Objetivos .....	7
1.5.1 Objetivo General .....	7
1.5.2 Objetivos específicos .....	7
1.6 Hipótesis .....	7
1.7 Justificación .....	8
1.8 Declaración de las variables (Operacionalización) .....	10
CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial .....	11
2.1. Antecedentes Referenciales .....	11
2.1.1 Chicha de jora: bebida fermentada tradicional y su microbiota .....	11
2.1.2 Uso de microorganismos en el control biológico de malezas .....	12
2.1.3 Fermentados tradicionales como insumos agrícolas en sistemas sostenibles .....	13
2.2 Marco conceptual .....	15
2.2.1 Bioherbicidas .....	15

2.2.2	Malezas .....	16
2.2.3	Metabolitos .....	16
2.2.4	Metabolitos primarios .....	17
2.2.5	Metabolitos secundarios .....	17
2.2.6	Microorganismos beneficiosos .....	18
2.2.7	Agricultura Sostenible.....	19
2.3	Marco teórico .....	20
2.3.1	Microorganismos en la chicha de jora .....	20
2.3.2	Diversidad microbiana .....	21
2.3.3	Bacterias con potencial biocontrolador .....	31
2.3.4	Las actinobacterias.....	33
2.3.5	Control biológico de malezas.....	34
2.3.6	Microorganismos como bioherbicidas.....	34
2.3.7	Bioherbicidas basados en bacterias .....	35
2.3.8	Bioherbicidas a base de hongos.....	35
Capítulo III: Diseño Metodológico .....		37
3.1	Tipo y diseño de la investigación .....	37
3.2	Población y muestra .....	37
3.3	Los métodos y técnicas.....	37
3.4	Procesamiento estadístico de la información .....	43
CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados .....		44
4.1	Análisis e interpretación de Resultados .....	44

4.2	Resumen de los resultados.....	44
4.3	Análisis detallado por medio de cultivo .....	45
4.4	Comparación entre los medios de cultivo.....	50
4.5	Ensayo en los sistemas agrícolas locales .....	50
CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones .....		53
5.1	Discusión .....	53
5.2	Conclusiones .....	56
5.3	Recomendaciones .....	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		58
ANEXOS.....		63

## Introducción

En la actualidad, la agricultura enfrenta el desafío crítico de la sostenibilidad y la preservación ambiental, exacerbado por el manejo tradicional de malezas altamente dependiente de herbicidas sintéticos. El uso excesivo de estos productos químicos ha demostrado generar efectos negativos significativos, incluyendo la pérdida de biodiversidad en los agroecosistemas, el deterioro de la salud del suelo y la contaminación del agua. Como respuesta a esta problemática, se ha impulsado la búsqueda de alternativas biológicas que promuevan un manejo agrícola más amigable con el entorno. Dentro de este marco, el uso de microorganismos presentes en productos tradicionales ha cobrado especial relevancia. La chicha de jora, una bebida fermentada con profunda tradición en las regiones andinas, se perfila como una opción particularmente relevante por su naturaleza local y su composición microbiana, la cual se ha identificado como prometedora para el control de malezas (Altieri, 2018).

Esta bebida, fermentada tradicionalmente a partir de maíz, ejemplifica cómo los productos originarios pueden ofrecer soluciones innovadoras en el campo agrícola. Durante su proceso de fermentación, se desarrolla una rica variedad de microorganismos, incluyendo bacterias lácticas, levaduras y hongos. Estos microorganismos poseen un potencial significativo para ser empleados en el control biológico de malezas, un enfoque que utiliza organismos vivos para mitigar la proliferación de especies no deseadas, minimizando así el impacto ambiental (Díaz & Pérez, 2018).

Las malezas, al competir por recursos limitantes como agua, luz solar, nutrientes del suelo, impactan directamente el desarrollo y el rendimiento de los

cultivos, pudiendo conducir a pérdidas significativas. El control biológico mediante microorganismos ofrece diversas vías de acción, como la competencia por nutrientes y espacio, la producción de compuestos tóxicos o la inducción de respuestas de defensa en las plantas cultivadas. En este sentido, la chicha de jora fermentada, gracias a su composición microbiana diversa, podría contribuir al control biológico de malezas en sistemas agrícolas sostenibles. Diversas investigaciones han demostrado que los microorganismos benéficos en productos fermentados tienen el potencial de reducir la necesidad de insumos químicos y contribuir al equilibrio ecológico en los agroecosistemas (Hernández, 2019).

Estudios sobre la microbiota de la chicha de jora han identificado una amplia gama de bacterias y hongos capaces de inhibir el crecimiento de malezas como *Amaranthus*, *Portulaca* y *Bidens*, comunes en cultivos andinos de maíz y papa. Estas regiones, donde el uso tradicional de la chicha de jora está ampliamente arraigado, podrían beneficiarse enormemente. A través de un manejo adecuado de la fermentación, la aplicación de esta bebida fermentada, es posible no solo controlar malezas, sino también reducir el uso de herbicidas y pesticidas sintéticos, avanzando hacia una agricultura más sostenible (González & Vargas, 2015).

Para tal fin, la presente investigación se llevará a cabo mediante pruebas de laboratorio para identificar los microorganismos presentes en esta bebida fermentada, con un enfoque específico en su aplicación específicamente en Vinchoa, cantón Guaranda, provincia Bolívar.

Esta brecha de conocimiento justifica la pertinencia de este trabajo. Por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo es evaluar el potencial de los microorganismos presentes en la chicha de jora para el control biológico de malezas en sistemas agrícolas.

## **CAPÍTULO I: El problema de investigación**

### **1.1 Planteamiento del Problema**

El control de malezas representa uno de los mayores desafíos en la agricultura a nivel mundial, contribuyendo significativamente a la pérdida de rendimiento en los cultivos como al incremento de los costos de producción. Se estima que, a nivel global, las malezas pueden ocasionar reducciones de rendimiento de hasta un 30-40% en diversos sistemas agrícolas, afectando directamente la viabilidad económica y ambiental de las prácticas sostenibles. En la región andina de Ecuador, la persistencia de malezas es un factor limitante clave que reduce anualmente hasta un 25% la productividad en cultivos esenciales como el maíz y la papa, incrementando la dependencia de herbicidas sintéticos.

Para su manejo, los herbicidas químicos han sido ampliamente utilizados; sin embargo, su uso excesivo ha generado preocupaciones ambientales y de salud pública debido a la contaminación del suelo, el agua y la biodiversidad. Además, ha propiciado la aparición de malezas resistentes, lo que agrava aún más el desafío de su control. Estas problemáticas demandan soluciones innovadoras y sostenibles que permitan mantener la productividad agrícola sin comprometer la biodiversidad y la funcionalidad de los ecosistemas naturales.

Una alternativa prometedora es el uso de controladores biológicos, especialmente microorganismos, que pueden actuar como agentes bioherbicidas. Estos microorganismos pueden inhibir el crecimiento de las malezas mediante mecanismos como la producción de metabolitos secundarios, competencia por recursos o alteración de procesos fisiológicos en las plantas no deseadas. Sin embargo, la investigación en este campo sigue siendo limitada, especialmente en el contexto de sistemas agrícolas sostenibles en regiones de América Latina, donde

existen prácticas ancestrales o conocimientos tradicionales de fermentación que podrían ser aprovechados.

La chicha de jora, una bebida fermentada tradicional de los Andes, alberga una microbiota asociada a la fermentación que ha sido estudiada principalmente por su papel en la fermentación alimentaria. A pesar de su rica diversidad microbiana y las prácticas ancestrales de su producción en la región, no existen estudios previos documentados que hayan explorado el potencial herbicida biológico de los microorganismos presentes en la chicha de jora. La posibilidad de que estos microorganismos tengan actividad bioherbicida plantea una oportunidad para desarrollar estrategias de control biológico más sostenibles y adaptadas al contexto local para el manejo de malezas.

## **1.2 Delimitación del problema**

La investigación se centra en la búsqueda de alternativas sostenibles para el control de malezas, específicamente mediante el uso de microorganismos con actividad bioherbicida. Nos enfocamos en el potencial de la microbiota presente en la chicha de jora para la identificación y caracterización preliminar de microorganismos con actividad bioherbicida.

Este estudio se delimita al contexto agrícola de la región andina de Ecuador, con un interés particular en malezas que afectan cultivos clave como el maíz y la papa, los cuales son fundamentales para la seguridad alimentaria local. Las especies de malezas de interés para la evaluación incluyen: *Rumex crispus* (lengua de vaca), *Galinsoga parviflora* (huasca), *Digitaria sanguinalis*, y *Trifolium repens* (trébol blanco).

El enfoque metodológico comprende, en una primera fase, un análisis microbiológico en laboratorio. Esto se realizará a través de la siembra de la microbiota de la chicha de jora en medios de cultivo sólido y la posterior observación

microscópica para la identificación de posibles microorganismos con potencial de herbicida biológico. En una segunda fase, se llevaron a cabo ensayos en campo, mediante la aplicación directa al suelo en parcelas delimitadas de 1 x 1 m<sup>2</sup>. Esta aproximación permitirá evaluar la actividad bioherbicida en condiciones reales e identificar y seleccionar los microorganismos más prometedores para futuras investigaciones.

### **1.3 Formulación del problema**

¿Pueden los microorganismos presentes en la chicha de jora fermentada ejercer un efecto inhibitorio sobre malezas comunes en sistemas agrícolas sostenibles?

### **1.4 Preguntas de investigación**

¿Cuáles son los microorganismos predominantes en la chicha de jora fermentada con potencial bioherbicida?

¿Qué tipos de microorganismos se lograrán aislar e identificar a partir de la chicha de jora mediante el uso de tres medios de cultivo sólido?

¿Presentan estos microorganismos actividad inhibitoria frente a especies de malezas?

¿Qué especies de malezas son más susceptibles a los microorganismos de la chicha de jora?

## **1.5 Objetivos**

### **1.5.1 Objetivo General:**

- Evaluar el efecto de los microorganismos presentes en la chicha de jora fermentada para el control biológico de malezas en sistemas agrícolas sostenibles.

### **1.5.2 Objetivos específicos:**

- Aislar los microorganismos presentes en la chicha de jora fermentada mediante el uso de tres medios de cultivo sólido.
- Identificar macroscópicamente los microorganismos aislados a través de técnicas de cultivo microbiológico.
- Seleccionar especies de malezas comunes en los sistemas agrícolas locales para su uso en ensayos de actividad bioherbicida.

## **1.6 Hipótesis**

Los microorganismos presentes en la chicha de jora fermentada inhiben el crecimiento de especies de malezas seleccionadas, demostrando su potencial como agente de biocontrol en sistemas agrícolas sostenibles.

## 1.7 Justificación

El desafío de las malezas en la agricultura, intensificado por el uso desmedido de herbicidas químicos, demanda urgentemente soluciones sostenibles que no solo sean efectivas, sino también ambientalmente responsables y económicamente factibles. El impacto negativo de los herbicidas sobre la biodiversidad, la salud humana y los ecosistemas ha generado un interés creciente en el desarrollo de alternativas biológicas para el manejo de malezas. En este contexto, los microorganismos derivados de productos fermentados tradicionales, como la chicha de jora, ofrecen una oportunidad innovadora y aún inexplorada en la búsqueda de bioherbicidas naturales.

La selección de la chicha de jora como fuente de microorganismos para el control biológico de malezas se fundamenta en los siguientes aspectos:

**Diversidad Microbiana:** La chicha de jora, al ser un fermentado tradicional, alberga una microbiota compleja y diversa, compuesta principalmente por bacterias lácticas, levaduras y hongos, conocidos por su capacidad de producir metabolitos secundarios con actividad biológica. Entre los metabolitos incluyen compuestos alelopáticos, ácidos orgánicos y sustancias antimicrobianas que pueden tener efectos inhibitorios sobre las malezas.

**Relevancia Cultural y Económica:** La chicha de jora es un fermentado ampliamente producido y consumido en las regiones andinas. Aprovechar este producto tradicional para desarrollar soluciones agrícolas sostenibles, ya que hay que revalorizar el uso de recursos locales, porque puede generar beneficios económicos para comunidades rurales al vincularlas con proyectos de agricultura sostenible (Díaz Rodríguez, 2018).

**Sostenibilidad:** El uso de microorganismos como bioherbicidas puede reducir significativamente la dependencia de productos químicos sintéticos, minimizando su impacto ambiental y promoviendo la salud del suelo y la biodiversidad en los sistemas agrícolas.

**Innovación Científica:** La investigación en microorganismos con potencial bioherbicida aún está en desarrollo. La escasa evidencia previa documentada sobre el uso específico de la chicha de jora como herbicida biológica refuerza el carácter innovador de este estudio. Investigar los microorganismos presentes en la chicha de jora representa una oportunidad única para contribuir con nuevos conocimientos al campo de la biotecnología agrícola y, a su vez, ampliar el repertorio de agentes biológicos disponibles para el manejo de malezas.

**Contribución a la Agricultura Sostenible:** Este enfoque está alineado con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), especialmente con el ODS 2 (Hambre Cero), al promover sistemas agrícolas sostenibles, y el ODS 15 (Vida de Ecosistemas Terrestres), mediante la reducción del impacto ambiental en los agrosistemas y el aprovechamiento sostenible de la diversidad microbiana nativa (Benítez & Rincón, 2003).

## 1.8 Declaración de las variables (Operacionalización)

La presente tabla muestra la operalización de las variables de la investigación:

**Tabla 1: Operalización de variables**

Variable	Dimensión	Indicador	Técnica/Instrumento	Escala/Unidad
<b>Uso de chicha jora (VI)</b>	Microorganismos presentes	Número y tipo de colonias aisladas	Cultivo en medios sólidos	Conteo de colonias (número)
	Diversidad microbiana	Clasificación por morfología	Observación macroscópica	Morfología descriptiva
<b>Actividad bioherbicida (VD)</b>	Inhibición del crecimiento	Reducción del tamaño/planta de maleza	Bioensayo en macetas o placas	% de inhibición o tamaño (cm)

## CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial

### 2.1. Antecedentes Referenciales

#### 2.1.1 Chicha de jora: bebida fermentada tradicional y su microbiota

La chicha de jora es una bebida fermentada ancestral de origen andino, elaborada principalmente a base de maíz germinado (jora), cuyo proceso de fermentación involucra una compleja interacción de microorganismos nativos. Diversos estudios han buscado identificar los microorganismos predominantes en este tipo de fermentados, debido a su importancia tanto cultural como biotecnológica.

En un estudio realizado por (López & Zavaleta, 2016) en la región de Cusco, se identificaron diferentes especies de bacterias ácido-lácticas como *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, y levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* durante el proceso de fermentación de la chicha de jora. Estos microorganismos han sido ampliamente estudiados en otras industrias, como la alimentaria y la agrícola, por sus propiedades beneficiosas, incluyendo la producción de metabolitos con acción antimicrobiana y antifúngica.

Asimismo, (Salazar, Ramos, & Ponce, 2019) analizaron muestras de chicha de jora provenientes de distintos valles interandinos del Perú y encontraron una diversidad significativa de bacterias del ácido láctico y levaduras nativas, algunas con capacidades probióticas y potenciales aplicaciones agrícolas. Aunque el estudio no evaluó directamente su aplicación como bioinsumo, destacó la presencia de metabolitos secundarios con posible acción alelopática (sustancias que afectan el crecimiento de otras plantas o microorganismos).

Este tipo de fermentaciones naturales han sido comparadas con los bioinsumos utilizados en la agricultura orgánica, donde productos fermentados como

los "bioles" o extractos microbianos se aplican al suelo o directamente sobre plantas para mejorar la sanidad vegetal, combatir plagas o suprimir enfermedades.

### **2.1.2 Uso de microorganismos en el control biológico de malezas**

El control biológico de malezas mediante microorganismos es un campo emergente dentro de la agricultura sostenible. Investigaciones recientes han identificado bacterias, hongos y otros microorganismos capaces de inhibir la germinación, el crecimiento radicular o la fotosíntesis de plantas no deseadas (malezas).

Según, (García, Rodríguez, & Salinas, 2020), reportaron el uso exitoso de *Pseudomonas fluorescens* como bioherbicida contra malezas de hoja ancha en cultivos de maíz, mediante la liberación de compuestos alelopáticos que interfieren con la germinación de semillas invasoras. Del mismo modo, (Villalobos & Méndez, 2018) aislaron cepas de *Bacillus subtilis* de suelos agrícolas que demostraron actividad inhibidora sobre *Amaranthus spinosus* (kira), una maleza común en los Andes centrales.

Por otro lado, el hongo *Trichoderma harzianum*, ampliamente utilizado como agente de biocontrol, también ha sido estudiado por sus posibles efectos herbicidas. Según (Reyes & Paredes, 2021), extractos fermentados con este hongo mostraron acción supresora sobre malezas gramíneas en condiciones de invernadero.

En todos estos casos, los microorganismos producen metabolitos secundarios, enzimas u otras sustancias que afectan el desarrollo de las malezas, lo que sugiere un potencial uso de fermentados naturales como la chicha de jora, que alberga múltiples microorganismos activos, como fuente de control biológico.

### **2.1.3 Fermentados tradicionales como insumos agrícolas en sistemas sostenibles**

La utilización de productos fermentados de origen natural como bioinsumos es una práctica en auge dentro de la agricultura orgánica y agroecológica. Diversas experiencias campesinas en América Latina, incluyendo el uso de bioles, purines y fermentos artesanales, han sido documentadas como alternativas viables al uso de agroquímicos sintéticos.

(Torres, 2017), reportó el uso de fermentados de residuos orgánicos y microorganismos nativos en fincas agroecológicas de Ecuador, donde se observaron efectos positivos en el control de plagas, enfermedades y algunas malezas. En estas prácticas, la fermentación genera una alta concentración de microorganismos activos que, al aplicarse al suelo o a los cultivos, modifican la microbiota del agroecosistema, creando un ambiente menos favorable para el desarrollo de organismos indeseables, incluyendo malezas.

En el caso de la chicha de jora, aunque su uso agrícola no está documentado ampliamente, existen experiencias empíricas en comunidades andinas que la utilizan como fertilizante líquido o para mejorar la salud del suelo, aprovechando su contenido microbiano. Estas prácticas tradicionales, si bien carecen de validación científica formal, ofrecen un punto de partida para investigaciones como la presente.

Además, el enfoque agroecológico promueve el aprovechamiento de recursos locales, minimizando la dependencia de insumos externos y recuperando saberes ancestrales. La valorización de productos tradicionales como la chicha de jora en el ámbito agrícola puede contribuir a innovaciones sostenibles, culturalmente apropiadas y de bajo costo.

## **Fermentación y microbiología de fermentaciones tradicionales**

En biotecnología, la fermentación se define como un proceso celular anaeróbico en el que los compuestos orgánicos se convierten en moléculas más simples y se obtiene energía química (ATP). Las bacterias de fermentación del ácido láctico causan una rápida acidificación de la materia prima mediante la producción de ácidos orgánicos beneficiosos, principalmente ácido láctico, pero también ácido acético, etanol, aromas, enzimas y bacteriocinas (Sionek & Szydłowska, 2023).

## **Mecanismos de acción de bioherbicidas microbianos**

Para desarrollar un bioherbicida efectivo, se han desarrollado interacciones específicas y entre las malezas objetivos y agentes biológicos. Si bien un número limitado de bioherbicidas ha tenido éxito en condiciones de campo para controlar machos específicos, la eficacia de muchos agentes de otros bioherbicidas es todavía insuficiente por sí misma a diversas razones, como formulación, la menor persistencia en el campo y la falta de interacción entre el huésped y el agente (Raza, 2025).

## **Producción de aleloquímicos/alelopatía**

La alelopatía es definida como la influencia directa de un compuesto químico liberado por una planta sobre el desarrollo y crecimiento de otra planta. Es un hecho conocido que sustancias alelopáticas son inducidas por estreses ambientales. Los compuestos alelopáticos pueden ser liberados de las plantas al ambiente por medio de la exudación de las raíces, lixiviación, volatilización y descomposición de los residuos de las plantas en el suelo. Las sustancias alelopáticas, si están presentes en las variedades de las especies cultivadas, pueden reducir la necesidad del manejo de malezas, especialmente el uso de herbicidas. La alelopatía por sí sola puede no ser una perfecta tecnología de manejo de malezas pero puede ser una herramienta suplementaria para el control de malezas. Es extremadamente difícil demostrar la

influencia de la alelopatía en la naturaleza dada la complejidad de la interferencia de las plantas que incluye efectos positivos, negativos y neutros entre las mismas (FAO).

### **Vacíos existentes y justificación de la investigación**

A pesar de los antecedentes sobre el uso de microorganismos en el control biológico y las investigaciones sobre la composición microbiana de la chicha de jora, no se han encontrado estudios científicos que analicen el uso de esta bebida fermentada como bioherbicida en sistemas agrícolas sostenibles.

Esta falta de investigaciones específicas plantea un vacío importante en la literatura, y justifica plenamente la presente tesis, que busca evaluar, de forma sistemática, el potencial de los microorganismos presentes en la chicha de jora fermentada para el control biológico de malezas. Tal enfoque no solo tiene valor científico, sino también social y ambiental, al vincular el conocimiento ancestral con soluciones contemporáneas para una agricultura más sostenible.

## **2.2 Marco conceptual**

### **2.2.1 Bioherbicidas**

Los bioherbicidas consisten en microorganismos como patógenos y otros microbios o fitotoxinas derivados de microbios, insectos o extractos de plantas que actúan como un medio natural de control de malas hierbas. Según (Bailey , 2014), los bioherbicidas son productos naturales que se pueden utilizar para controlar las malas hierbas. Pero hay que recordar que, aunque los bioherbicidas comprenden compuestos derivados de la naturaleza, esto no quiere decir que sean completamente inofensivos. Las plantas producen toxinas naturales que podrían afectar la salud de organismos no floraminas en el medio ambiente o ciertas bacterias, virus y hongos que podrían causar problemas de salud a animales y humanos (Sekhar, Sandhya, Vinod, & Banji, 2012). Por lo tanto, estas toxinas naturales deben ser cuidadosamente

gestionadas para evitar cualquier impacto no intencionado en los cultivos o la fauna y flora beneficiosas.

### **2.2.2 Malezas**

Las malas hierbas son plantas que crean serias limitaciones en la producción agrícola. Competirán con cultivos para el agua, gases, nutrientes, espacio, luz y otros recursos de crecimiento, y pueden convertirse en huéspedes de plagas y enfermedades (Nichols, Verhulst, Cox, & Govaerts, 2015). Las pérdidas de rendimiento de los cultivos debidas a malas hierbas varían considerablemente dependiendo del cultivo, estrategias de manejo de malezas, composición de malas hierbas, período de infestación y factores abióticos (por ejemplo, factores refádicos del clima y del suelo) (Oerke, 2006). En la agricultura, la gestión de la maleza es una práctica agronómica clave. Debido a la escasez de mano de obra en el sector agrícola, la práctica de utilizar herbicidas para controlar las densidades de maleza está aumentando en todo el mundo (Aktar, 2009). Inevitablemente, se ha demostrado que el uso constante de herbicidas en el mismo campo para controlar las malas hierbas durante un período prolongado causante de resistencia a herbicidas, residuos en los cultivos, desequilibrio ecológico entre organismos dañinos y beneficiosos y contaminación ambiental.

### **2.2.3 Metabolitos**

Los metabolitos son compuestos moleculares que resultan del ciclo de vida de los microorganismos. Los metabolitos desempeñan un papel no solo en la agricultura y el manejo de cultivos, sino también en la salud humana y en muchas otras industrias. Uno de los metabolitos más reconocidos es la penicilina. Otros antibióticos también son metabolitos de diversas bacterias y otros microorganismos.

Los metabolitos producidos a partir de bacterias durante el proceso de fermentación tienen una amplia gama de usos en la naturaleza. No son solo un subproducto creado durante el crecimiento y desarrollo del microbio; también pueden tener propiedades beneficiosas, como la disponibilidad de nutrientes para las plantas y la ayuda en el manejo de enfermedades, que promueven relaciones simbióticas.

Hay dos tipos de metabolitos creados por los microorganismos. Primero, los metabolitos primarios son aquellos que son esenciales para el crecimiento y desarrollo de la planta.

#### **2.2.4 Metabolitos primarios**

- **Aminoácidos:** Los componentes básicos de las moléculas de proteínas.
- **Enzimas:** Desarrolladas a partir de los propios microorganismos, actúan como catalizadores de diversas reacciones sin perder sus propias propiedades y características.
- **Vitaminas:** micronutrientes esenciales que necesitan las plantas y los animales para funcionar.
- **Ácidos orgánicos y alcoholes:** estos productos de metabolismo primario se utilizan predominantemente en industrias fuera de la agricultura y varían en sus usos, desde aromatizantes hasta fermentación, entre muchos otros.

#### **2.2.5 Metabolitos secundarios**

Los metabolitos secundarios están orientados a ayudar a la planta a responder ante factores estresantes, como la sequía, la salinidad y la presión de las plagas, y a inducir la resistencia de la planta a los factores estresantes bióticos y abióticos. También se ha encontrado que los metabolitos están relacionados con la calidad y disponibilidad de nutrientes de los cultivos (Alltech, 2021).

## Propiedades de los metabolitos secundarios

- Manejo de plagas: algunos metabolitos secundarios tienen propiedades biopesticidas que atacan a plagas y malezas específicas al tiempo que disminuyen los riesgos ambientales.
- Regulación del crecimiento de las plantas: estos metabolitos actúan diferenciando las células vegetales y promoviendo o inhibiendo el crecimiento de las plantas según sea necesario.
- Resistencia inducida: los metabolitos secundarios empujan a la planta a formar un mecanismo de respuesta a los factores estresantes para que esos factores estresantes tengan un efecto diluido en el crecimiento, el vigor y la productividad de la planta.

### 2.2.6 Microorganismos beneficiosos

Existe una multitud de especies microbianas que pueden ayudar al crecimiento y la productividad de las plantas, la mayoría de las cuales aún se desconocen. Algunos ejemplos de bacterias y hongos beneficiosos que ya se han descubierto incluyen:

- *Bacillus subtilis*: Con más de 200.000 cepas identificadas, esta familia de microorganismos lanza una amplia red para luchar contra patógenos como Fusarium, Pythium, Rhizoctonia y otros.
- *Bacillus licheniformis*: esta bacteria es excelente en su capacidad para descomponer proteínas, especialmente duras en los residuos vegetales, y las investigaciones han descubierto que también es eficaz en la supresión de nematodos y la síntesis de hormonas vegetales.
- *Bacillus thuringiensis*: los metabolitos de estas bacterias tienen propiedades insecticidas.

- *Lactobacillus plantarum*: varios compuestos, incluido el ácido láctico, crean un entorno hostil para los microorganismos competidores.
- *Trichoderma harzianum*: este hongo crea una relación mutuamente beneficiosa con las raíces de una planta y puede ayudar a proteger contra patógenos como Pythium y Fusarium.
- *Trichoderma longibrachiatum*: las investigaciones han descubierto que esta cepa de hongos no solo actúa como antagonista contra los nematodos y otros hongos que causan enfermedades, sino que también puede tener una influencia positiva en la absorción de nutrientes de las plantas y la producción de hormonas vegetales.
- *Aspergillus spp*: Se sabe que las cepas de este moho producen enzimas que descomponen las fibras vegetales, lo que, a su vez, mejora la estructura del suelo, aumenta la cantidad de materia orgánica y ayuda a liberar energía y nutrientes que la planta puede utilizar para mejorar el rendimiento y la productividad (Alltech, 2021).

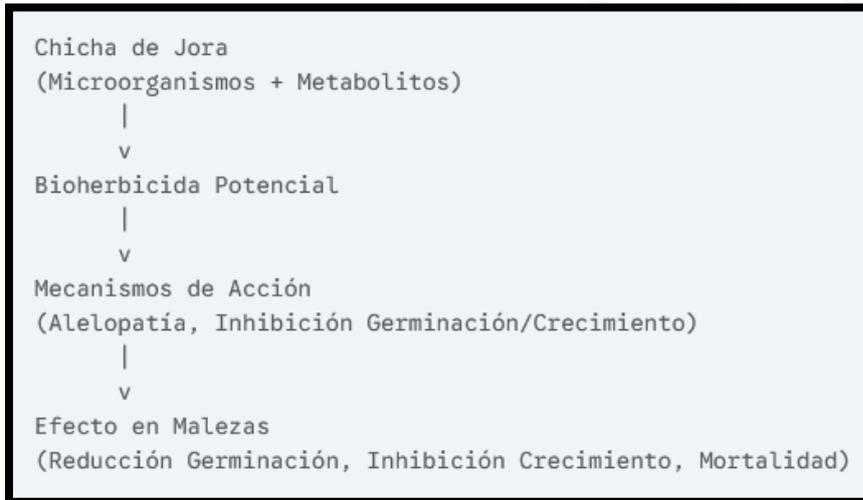
### 2.2.7 Agricultura Sostenible

El concepto de agricultura sostenible puede definirse como un sistema de prácticas agrícolas ecológicas basado en innovaciones científicas a través de las cuales es posible producir alimentos saludables con prácticas respetuosas para el suelo, aire, agua, y respetando los derechos y salud de los agricultores.

La agricultura sostenible persigue satisfacer las necesidades humanas de alimentación saludable mediante los siguientes principios básicos: la mejora de la calidad en el medio ambiente, la preservación de los recursos naturales, el uso eficiente de los recursos agrícolas y de las fuentes de energía no renovables, la

adaptación a los ciclos naturales biológicos, así como el apoyo al desarrollo económico rural y a la calidad de vida de los agricultores (Kogut, 2025).

**Figura 1:** Esquema del uso de la Chicha de Jora como fuente potencial de un bioherbicida



Este esquema muestra cómo un producto tradicional como la chicha de jora, a través de sus microorganismos y metabolitos naturales, puede tener un efecto herbicida sobre ciertas malezas. Esto se logra mediante mecanismos como la alelopatía y la inhibición de la germinación y el crecimiento, lo que finalmente puede provocar mortalidad en las malezas. Es una aproximación interesante para desarrollar alternativas agroecológicas a los herbicidas químicos, utilizando recursos locales y sostenibles.

## 2.3 Marco teórico

### 2.3.1 Microorganismos en la chicha de jora

La chicha de jora es evidentemente la bebida preferida por los pueblos indígenas del Ecuador, esta bebida juega un rol importante en las comunidades que lo consumen, ya que no solamente es una fuente de alimento y energía, sino que también se la consume en rituales, fiestas y ceremonias religiosas. La chicha de jora es realizada por un tipo especial de maíz llamado jora, este sirve para realizar la

“**harina de jora**”. El color de la jora depende mucho del país en donde se la realice, sin embargo, en Ecuador se prefiere la jora de color blanco (Kijac, 2003).

La fermentación es un proceso natural que los humanos han utilizado a lo largo de la historia con el fin de enriquecer el sustrato del alimento con proteínas, aminoácidos esenciales y vitaminas. De igual forma, este proceso cumple con la función de desintoxicar comida y mejorar las características sensoriales de los alimentos (Steinkraus, 1995). También ha sido un método efectivo de conservación de alimentos, en épocas sin acceso a refrigeración (Mendoza, Neef, Vignolo, & Belloch, 2017). Los resultados comunes de estas preparaciones incluyen la transformación de carbohidratos y azúcares en etanol (Gomes, 2009).

El proceso de fermentación de la chicha dura entre 1 o 6 días, dependiendo del grado alcohólico deseado. A partir de su tiempo de fermentación, se puede clasificar a la chicha en chicha madura o chicha tierna.

El método tradicional establece que una vez que se ha cernido la mezcla, esta se procede a almacenar en pundos de cerámica o barro, los cuales contienen restos de la anterior preparación y facilitan el proceso de la fermentación por su contenido en bacterias y levaduras. Pasado el séptimo día de fermentación la chicha puede presentar sabores amargos o agrios no agradables. Después se procede a cubrir los pundos con hojas de achira o cedazos de tela. Hoy en día, los pundos han sido reemplazados por recipientes de acero.

### **2.3.2 Diversidad microbiana**

#### **Bacterias ácido lácticas**

Las bacterias lácticas son un grupo de microorganismos grampositivos que pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc*. Estas bacterias son anaerobias facultativas, lo que significa que pueden crecer en

presencia de oxígeno o en su ausencia, aunque suelen preferir aquellos ambientes que son pobres en oxígeno (Instituto Europeo de Química, 2023)

Estas desempeñan un papel indispensable en la producción de alimentos fermentados. Su principal tarea es convertir los azúcares de los alimentos en ácido láctico, lo que acidifica el medio y proporciona un ambiente desfavorable para que crezcan microorganismos patógenos.

### **Características**

Las bacterias lácticas tienen varias características que las convierten en las más indicadas para llevar a cabo este proceso de fermentación. Estas son:

- Tolerancia al ácido. Pueden sobrevivir en ambientes ácidos, algo que hace que prosperen en condiciones de fermentación donde el pH del medio disminuye a causa de la producción de ácido láctico.
- Temperatura óptima de crecimiento. Esta oscila entre los 25°C y los 45°C, lo que las hace ideales para fermentar alimentos a temperaturas moderadas.
- Producción de compuestos aromáticos. Pueden producir una variedad de compuestos aromáticos y sabores que contribuyen al perfil sensorial característico de los alimentos fermentados.
- Capacidad para utilizar diferentes sustratos. Esto incluye la lactosa, la glucosa, la fructosa y otros azúcares presentes en los alimentos.
- Formación de biopelículas. Esto puede ayudar a protegerlas de condiciones adversas y mejorar su tasa de supervivencia durante el almacenamiento (Instituto Europeo de Química, 2023).

Las bacterias ácido lácticas (BAL) se replican principalmente a través de un proceso asexual llamado fisión binaria. Este es el método de reproducción más común en la mayoría de las bacterias.

### Pasos generales de la fisión binaria en las BAL:

- Crecimiento celular: La bacteria crece en tamaño y acumula los nutrientes necesarios para la división.
- Replicación del ADN: El cromosoma circular de la bacteria se replica, creando dos copias idénticas.
- Segregación del ADN: Las dos copias del ADN se mueven hacia los extremos opuestos de la célula.
- Formación del tabique: La membrana celular y la pared celular comienzan a crecer hacia adentro desde los lados de la célula, formando un tabique o septo en el centro.
- División celular: El tabique se completa, dividiendo la célula madre en dos células hijas idénticas. Cada célula hija recibe una copia del cromosoma y una parte de los componentes celulares.

### Factores que influyen en la replicación de las BAL:

- Disponibilidad de nutrientes: Las BAL necesitan carbohidratos (como la lactosa, glucosa, fructosa) como fuente de energía principal para su crecimiento y replicación, ya que la mayoría son incapaces de aprovechar la respiración celular.
- Temperatura: Tienen una temperatura óptima de crecimiento. Se clasifican en mesofílicas (20-35 °C) y termofílicas (35-50 °C).
- pH: Son tolerantes a ambientes ácidos, e incluso prosperan en ellos, ya que su propia producción de ácido láctico disminuye el pH del medio.
- Condiciones anaeróbicas o microaerófilas: La mayoría de las BAL son anaerobias o microaerófilas, lo que significa que no requieren oxígeno o solo

necesitan una cantidad muy pequeña para crecer (Madigan, Bender, Buckley, Sattley, & Stahl, 2018).

### **El género *Lactobacillus***

El género *Lactobacillus* es uno de los grupos más importantes dentro de las bacterias lácticas. Incluye una amplia gama de especies que desempeñan roles diversos en la fermentación alimentaria, pero también en la salud humana. Algunas de sus funciones principales incluyen:

- Fermentación láctica. Son capaces de convertir los azúcares presentes en los alimentos en ácido láctico. Esto reduce el pH del medio y contribuye a la conservación de los alimentos.
- Producción de ácido láctico y otros compuestos. Estos incluyen el ácido acético, el etanol, el dióxido de carbono y compuestos aromáticos que contribuyen al sabor y aroma.
- Contribución a la salud intestinal. Algunas cepas son conocidas por sus efectos beneficiosos para la salud intestinal puesto que ayudan a mantener un equilibrio saludable de la microbiota y protegen contra la colonización de patógenos.
- Producción de vitaminas y nutrientes. Algunas especies tienen la capacidad de producir vitaminas del grupo B, así como otros nutrientes esenciales que pueden contribuir a la salud humana.
- Protección contra patógenos. Esto puede ayudar a prevenir infecciones y enfermedades gastrointestinales (Instituto Europeo de Química, 2023).

El género *Lactobacillus*, como la mayoría de las bacterias, se replica principalmente a través de un proceso llamado fisión binaria. Este es un método de

reproducción asexual que resulta en la formación de dos células hijas genéticamente idénticas a la célula madre (Pham & Maalej, 2019).

### **El género *Leuconostoc***

*Leuconostoc* es un género de bacterias del ácido láctico Gram-positivas de la familia *Leuconostocaceae*. Las especies de *Leuconostoc* tienen generalmente forma de cocoide ovoide y a menudo forman cadenas. Son resistentes intrínsecamente a la vancomicina y catalasa-negativos (lo cual los distingue de *Staphylococcus*). Son heterofermentativos, capaces de producir dextrano a partir de la sacarosa (Björkroth & Holzapfel, 2006).

Aunque inicialmente se consideraban comensales no-patógenos en humanos, desde la descripción en 1985 del primer caso de bacteriemia por *Leuconostoc spp.*, algunas especies son también capaces de producir infecciones a los seres humanos (Cuervo, Cortés, Rodríguez, Hormaza, & Vargas, 2008). Se consideran patógenas oportunistas aunque en muy baja frecuencia, que se pueden encontrar en pacientes críticamente enfermos, inmunocomprometidos y con infecciones intra-hospitalarias. Generalmente, se asocian a bacteriemia por dispositivos intra-vasculares y al uso de nutrición parenteral total. Sin embargo, también se han descrito otras infecciones asociadas, dentro de las que se cuentan meningitis, osteomielitis, infección del torrente sanguíneo, de vías urinarias y peritonitis (Vagiakou, y otros, 2002).

### **El género *Pediococcus***

*Pediococcus* es un género de bacterias lácticas con forma de cocoide (esféricas). Los *Pediococcus* suelen presentarse en pares y tétradas, y originalmente se confundieron con el género *Sarcina*, de ahí el término "enfermedad de la sarcina" para la cerveza contaminada con estas bacterias. Al igual que otras bacterias lácticas, estos organismos grampositivos tienen una fisiología fermentativa (producen ácido

láctico a partir de azúcares) y crecen mejor a pH bajo (alrededor de 4-5) y en ausencia de aire. Por estas razones, se requieren medios de cultivo especializados a pH bajo y suplementados con glucosa o sacarosa para su crecimiento en el laboratorio.

Los *Pediococcus* se asocian con diversas fermentaciones alimentarias, como encurtidos de verduras, embutidos y productos lácteos. De las 16 especies reconocidas, *Pediococcus damnosus* es, con diferencia, el contaminante más común en la cerveza, probablemente porque ha desarrollado tolerancia a los isoalfaácidos del lúpulo mediante diversos mecanismos moleculares. Estos incluyen varios genes de resistencia diferente, similar a los que confieren resistencia a los antibióticos a las bacterias y codifican proteínas conocidas como exportadores multifármaco. *P. damnosus* puede detectarse en la fermentación tardía y el acondicionamiento de la cerveza envasada, pero rara vez en la levadura de inoculación. La cerveza contaminada se caracteriza por el aroma mantecoso del diacetilo, así como por turbidez y acidez. Los *Pediococcus* pueden producir grandes cantidades de polisacárido extracelular, que forma un precipitado viscoso o "cuerda" en las cervezas cuando hay presencia de azúcar fermentable (Suzuki, Kazumaru, Kanta, Sami, & Hiroshi, 2006).

### **Levaduras**

La levadura son hongos unicelulares, muy pequeños, que, para poder observarlos en detalle, necesitamos de un microscopio. Estos microorganismos son muy abundantes en la naturaleza y se encuentran tanto el suelo, en las plantas (semillas, frutas, flores, etc.), como en el intestino de los animales. Una de sus principales funciones es la de descomponedores primarios de la materia muerta de plantas y animales en muchos ecosistemas. Se alimentan de azúcares de los que obtienen energía durante el proceso de fermentación (Litoral), 2023).

## Características de las levaduras

La levadura es ampliamente utilizada en diversos procesos industriales tales como la producción de cerveza, la elaboración de pan, la producción de antibióticos, entre otros.

En el caso de la elaboración de pan, la levadura que interviene se denomina *Saccharomyces cerevisiae*. Estos microorganismos cumplen una función muy importante ya que son los encargados de fermentar el azúcar presente en la harina, dando como resultado etanol y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Los dos productos obtenidos de la fermentación son los que le otorgan la estructura y sabor característico del pan.

La fermentación es un proceso por el cual los microorganismos obtienen energía a partir de compuestos orgánicos, como son los azúcares, y pueden transformarlos en compuestos químicos más simples como el dióxido de carbono, ácidos, alcoholes, entre otros.

Existen diferentes tipos de fermentaciones como la alcohólica, láctica y acética, según el organismo que participe del proceso y las sustancias que se encuentren en el medio de cultivo.

En el caso de la levadura, interviene en la fermentación alcohólica. Se trata de un proceso de fermentación en el que la levadura, en ausencia de oxígeno, transforma el azúcar de la materia prima en alcohol y en dióxido de carbono gaseoso. Además, utilizan partes de las proteínas y azúcares para desarrollarse y multiplicarse (Litoral, 2023).

Recordemos que las levaduras experimentan la fermentación alcohólica. En este proceso, la glucosa (azúcar), en ausencia de oxígeno, se transforma en un alcohol denominado etanol y dióxido de carbono.

La energía que libera la glucosa durante el proceso puede ser utilizado por el organismo para cumplir con sus funciones, como las de desarrollarse y multiplicarse.

También estos experimentos permiten visualizar los productos que se obtienen de la fermentación alcohólica:

- El producto liberado como dióxido de carbono, es posible observarlo en forma de burbujas.
- La otra sustancia que se libera es un alcohol denominado etanol, que es posible verificar lo haciendo una prueba de olfato en los contenedores del experimento.

Otro detalle a observar es que, con agua fría, las levaduras no se activan. Esto es así porque las levaduras necesitan una temperatura de entre 30°C-35°C, mientras que, si superan los 35°C, se debilitan demasiado y a 60°C, mueren (Litoral), 2023).

### **El género *Saccharomyces cerevisiae***

*Saccharomyces cerevisiae* es un organismo unicelular perteneciente al reino de los hongos. Si bien su nombre común, "levadura de panadería", deriva de su uso esencial para levar la masa del pan, el nombre de su género deriva de la contracción de las raíces griegas saccharo (azúcar) y myces (hongo). El nombre de su especie, "cerevisiae", hace referencia a la "cervoise", la cerveza tradicional gala de cebada o trigo fermentada (LESAFFRE, 2020).

El genoma de *Saccharomyces cerevisiae* se secuenció completamente en 1996 (Goffeau, 1996), revelando alrededor de 6000 genes, de los cuales se predice que 5570 codifican proteínas. Esto significa que la mayor parte del genoma se dedica a la producción de proteínas funcionales (Wood, 2001).

Importancia en biología e industria

*S. cerevisiae* es uno de los microbios eucariotas mejor estudiados entre las comunidades microbianas. Es un referente en biotecnología, sirviendo como fábrica celular para productos farmacéuticos, compuestos bioquímicos y bioactivos, y para la fermentación industrial. Su valor biotecnológico reside en sus características únicas, como su capacidad para fermentar, producir alcohol y CO<sub>2</sub>, y soportar condiciones adversas como alta osmolaridad y bajo pH. Su genoma se ha ido configurando a lo largo de milenios mediante la domesticación, lo que lo convierte en un organismo modelo clave en la investigación y la bioingeniería (Parapouli, 2020).

Desde una perspectiva de agricultura sustentable, los biofertilizantes a base de *Saccharomyces cerevisiae* no solo mejoran el crecimiento de los cultivos y la absorción de nutrientes (por ejemplo, fósforo y nitrógeno), sino que también actúan como un agente de biocontrol contra patógenos del suelo (por ejemplo, micotoxinas, hongos y bacterias patógenas), reemplazando la necesidad de productos químicos dañinos.

### **El futuro de *Saccharomyces cerevisiae* en la biotecnología**

Las nuevas tecnologías genéticas, en particular los sistemas de edición génica CRISPR-Cas, y su fácil aplicación en *S. cerevisiae*, han abierto posibilidades de ingeniería metabólica previamente inimaginables. Junto con los descubrimientos en la fisiología y la bioquímica de la levadura, este conocimiento ha facilitado la manipulación racional del genoma de la levadura, convirtiéndola de un recurso natural útil en una plataforma tecnológica versátil (LESAFFRE, 2020).

### **El género *Candida spp***

*Candida albicans* es un hongo perteneciente al filo Ascomycota. Presenta genoma diploide y se reproduce de forma asexual por gemación (Canada, 2011).

Es dimórfico, por lo que se desarrolla de forma distinta en respuesta a los estímulos ambientales. Esta característica le permite evadir los mecanismos de defensa relacionados con la inmunidad celular del huésped (Pontón, 2002).

En forma de levadura presenta un aspecto de células redondas u ovoides, de 4-6  $\mu\text{m}$  por 6-10  $\mu\text{m}$  de tamaño, que forman pequeños grupos. En forma de hongo filamentoso produce pseudohifas e hifas verdaderas. También puede formar clamidosporas (Jacobsen, 2012).

Macroscópicamente, en agar Sabouraud crece formando colonias blancas, blandas, cremosas y lisas. En medios cromogénicos las colonias presentan color azul o verde claro (Silva, 2012).

### **El género *Pichia spp.***

La levadura *Pichia anomala* se encuentra frecuentemente en bebidas y alimentos fermentados, donde participa en la fermentación espontánea (Masoud, Cesar, & Jespersen, 2004).

*Pichia anomala* puede crecer en condiciones de estrés ambiental extremo, como pH bajo y alto, baja actividad de agua, alta presión osmótica y condiciones anaeróbicas (Fredlund, Druvefors, Boysen, & Lingsten, 2002). Debido a estas características, esta levadura puede ser un organismo de descomposición, por ejemplo en productos alimenticios con alto contenido de azúcar

*Pichia anomala* puede inhibir microorganismos dañinos en una variedad de hábitats. Por lo tanto, tiene un potencial tecnológico como agente de biocontrol. *Pichia anomala* puede inhibir microorganismos dañinos en una variedad de hábitats. Por lo tanto, tiene un potencial tecnológico como agente de biocontrol (Passoth & Schnürer, 2003). Cuando crece en grano forrajero, puede agregar valor al alimento además del efecto antimoho, ya que las levaduras se consideran fuentes de proteínas y vitaminas

(Litchfield, 1983). La levadura también podría ayudar a disminuir la liberación de nutrientes o gases de efecto invernadero al medio ambiente. Debido a su capacidad para asimilar una amplia gama de compuestos de nitrógeno, puede convertir compuestos de nitrato y amonio en proteínas que pueden usarse como materia prima (Mo, y otros, 2004).

### **2.3.3 Bacterias con potencial biocontrolador**

#### **El género *Bacillus***

El género *Bacillus* se encuentra ampliamente distribuido en los agro-sistemas y una de sus principales aplicaciones es el control de enfermedades de cultivos agrícolas. En la presente revisión se describe y analiza al género *Bacillus*, y sus principales mecanismos de acción, tales como la excreción de antibióticos, toxinas, sideróforos, enzimas líticas e induciendo la resistencia sistémica, enfocado en su capacidad para ser utilizado como agente de control biológico de plagas y enfermedades en plantas; así como su uso en la formulación de bioplaguicidas, que han sido incorporados a los programas de Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades. Además, se analiza el uso del género *Bacillus* en la agricultura bajo un enfoque de bioseguridad agrícola, así como los principales criterios indispensables de selección de agentes de control biológico promisorios, considerando cepas no patogénicas para el ser humano, y que no impacten negativamente a las comunidades microbianas de los agroecosistemas (Villarreal, y otros, 2018).

Actualmente, diversas formulaciones comerciales cuentan como ingrediente activo cepas del género *Bacillus*, debido a su capacidad de colonización, fácil reproducción y alta persistencia asociada a la formación de endosporas, siendo esta última una característica de especial interés ya que les permite sobrevivir bajo condiciones de estrés abiótico, facilitando su producción y almacenamiento durante

largos periodos de tiempo. Por otra parte, posterior a la inoculación del bioplaguicidas, es posible observar un efecto dual en los cultivos agrícolas por la acción de control biológico, mitigando a fitopatógenos e indirectamente promoviendo el crecimiento vegetal con la mejora de la salud de la planta (Villarreal, y otros, 2018).

### **El género *Pseudomonas***

Las cepas del género *Pseudomonas* son capaces de procesar, integrar y reaccionar a una amplia variedad de condiciones cambiantes en el medio ambiente, y muestran una alta capacidad de reacción a señales físico-químicas y biológicas. Son capaces de producir una gran diversidad de metabolitos secundarios, siendo gran parte de ellos péptidos no ribosomales. Se han descrito cepas capaces de adquirir resistencia a metales pesados, disolventes orgánicos y detergentes, lo cual les permite explotar una amplia gama de fuentes de carbono como nutrientes, así como colonizar ambientes y nichos que difícilmente son colonizables por otros microorganismos. Por ello no es sorprendente que se considere a las bacterias del género *Pseudomonas* un paradigma de versatilidad metabólica, y microorganismos claves en el reciclado de materia orgánica en los compartimentos aeróbicos de los ecosistemas, jugando, por tanto, un papel esencial en la mejora y el mantenimiento de la calidad medioambiental. Además de su uso en biodegradación las especies del género *Pseudomonas* se emplean en distintos procesos industriales, tales como la fabricación de bioplásticos o en técnicas de biocontrol. La posición taxonómica de las distintas especies del género se encuentra sujeta a revisión (Saati, Selem, Peral, Rivas, & García, 2022).

### 2.3.4 Las actinobacterias

#### Género *Streptomyces* spp.

*Streptomyces* es el género más grande de Actinomycetota y el género tipo de la familia Streptomycetaceae. Son un grupo de bacterias gram positivas de contenido GC generalmente alto. Se encuentran predominantemente en suelos y en la vegetación descompuesta y la mayoría produce esporas (también denominadas conidios) en los extremos de las hifas aéreas. Se distinguen por el olor a «tierra húmeda» que desprenden, resultado de la producción de un metabolito volátil, la geosmina (*S. coelicolor*) (Madigan & Martinko, 2005).

Las especies del género *Streptomyces* se caracterizan por poseer un metabolismo secundario (rutas metabólicas no requeridas para la supervivencia) complejo. Producen numerosos antibióticos de uso clínico de origen natural, como estreptomicina, neomicina, cloranfenicol, fosfomicina, etc, y otras moléculas de interés farmacológico como el ácido clavulánico. Las *Streptomyces* raramente son patógenas, aunque pueden producir infecciones en humanos, tales como micetoma por *S. somaliensis* y *S. sudanensis*. En las plantas, *S. caviscabies* y *S. scabies* ocasionan costras. También a partir de ellos, concretamente de *S. avermetilis*, se sintetizó toda una familia de insecticidas, las avermectinas (Madigan & Martinko, 2005).

Las bacterias del género *Streptomyces* son bacterias con un ciclo de vida complejo que incluyen procesos de muerte celular programada (MCP), diferenciación morfológica y esporulación y son considerados modelos procarióticos de multicelularidad. Estas bacterias tienen gran importancia biotecnológica por su capacidad para producir gran cantidad de metabolitos secundarios con actividades

biológicas variadas: antitumorales, inmunosupresoras, antibióticas, herbicidas, etc (Bustos, 2017).

### **2.3.5 Control biológico de malezas**

El biocontrol de malezas consiste en utilizar organismos vivos para destruirlas o inhibir su crecimiento y su capacidad de competir con los cultivos. El biocontrol suele dividirse en dos categorías: la introducción de agentes de biocontrol clásicos, a menudo insectos, y el aumento y uso excesivo de organismos, a menudo agentes patógenos.

El biocontrol clásico introduce depredadores naturales en las poblaciones de malezas. El control biológico clásico de malezas con insectos implica la introducción de enemigos naturales específicos del huésped, provenientes del área de distribución nativa de la maleza objetivo. El biocontrol clásico ha tenido buenos resultados a largo plazo en algunos casos, especialmente en pastizales. Su uso es menos común en tierras de cultivo. Generalmente, la maleza objetivo es una especie perenne de larga vida, especialmente difícil de controlar con métodos tradicionales (Frick & Johnson, 2002).

### **2.3.6 Microorganismos como bioherbicidas**

Una de las principales ventajas del uso de bioherbicidas microbianos para el control de malezas agrícolas es su costo de descubrimiento y desarrollo significativamente menor en comparación con los herbicidas sintéticos. El costo de los pesticidas sintéticos ha aumentado en las últimas décadas debido a factores como la disminución de la rentabilidad derivada de la evaluación exhaustiva de compuestos, un mercado más competitivo y mayores requisitos de seguridad. El desarrollo de herbicidas sintéticos implica una síntesis química exhaustiva y pruebas de eficacia y seguridad a gran escala. Por el contrario, el desarrollo de un bioherbicida a partir de

un patógeno vegetal endémico no requiere una síntesis química exhaustiva ni el mismo nivel de pruebas ambientales y toxicológicas. En consecuencia, la mayoría de los bioherbicidas microbianos han sido desarrollados por pequeñas empresas en lugar de grandes empresas de pesticidas sintéticos (Duke, 2023).

### **2.3.7 Bioherbicidas basados en bacterias**

Las bacterias que se asocian con los productos bioherbicidas son en su mayoría microorganismos que han sido aislados de las propias malezas o de su entorno. Este grupo de bacterias se conoce como bacterias asociadas a las plantas (PAB), que también incluye bacterias del suelo adyacentes a la rizosfera, rizobacterias, bacterias endófitas y bacterias fitopatógenas que coevolucionan con cultivos y malezas (Poudel M., 2021).

También se sabe que entre los microorganismos patógenos de malezas más recurrentes se encuentran los que pertenecen a los géneros *Pseudomonas* y *Xanthomonas*, dos bacterias Gram-negativas de la clase Gammaproteobacteria.

### **2.3.8 Bioherbicidas a base de hongos**

Los hongos representan un grupo biológico significativo que puede utilizarse como herramienta biotecnológica para el control de malezas. Cabe destacar que actualmente existen más estudios sobre productos bioherbicidas potenciales o comerciales derivados de hongos que sobre aquellos basados en bacterias (Karthick, y otros, 2023). Los hongos asociados con plantas pueden ejercer efectos tanto beneficiosos como perjudiciales. Entre las aproximadamente 150.000 especies de hongos descritas, alrededor de 8000 son fitopatógenas (Hyde, 2022). De manera similar a las bacterias asociadas a plantas (PAB), estos hongos fitopatógenos pueden aprovecharse para dirigir su actividad inhibidora contra las malezas que afectan a los cultivos. Un mecanismo principal por el cual los hongos inician la infección de las

plantas es a través de la producción de enzimas que degradan la pared celular de la planta. Estas enzimas hidrolizan los polisacáridos en la pared celular, lo que facilita la colonización fúngica y la adquisición de nutrientes esenciales para el crecimiento metabólico (Kubicek, Starr, & Glass, 2014). Además, los hongos emplean mecanismos específicos, como la producción de micotoxinas u hormonas, que les confieren un perfil antagónico más selectivo, un factor crucial en el desarrollo de herbicidas.

## Capítulo III: Diseño Metodológico

### 3.1 Tipo y diseño de la investigación

El diseño de la presente investigación es descriptivo y experimental. Es descriptivo porque busca caracterizar los microorganismos presentes en la chicha de jora fermentada, mediante técnicas de aislamiento y observación macroscópica en diferentes medios de cultivo sólido. A su vez, es experimental porque se emplearon procedimientos de laboratorio controlados para evaluar el crecimiento microbiano y su posible aplicación como agente bioherbicida, en condiciones definidas y reproducibles.

Este enfoque permite obtener datos observables y cuantificables, facilitando el análisis comparativo entre los microorganismos aislados y las condiciones de cultivo empleadas.

### 3.2 Población y muestra

La población de estudio está constituida por todos los microorganismos presentes en bebidas fermentadas tradicionales de origen andino. En este caso particular, la investigación se centró en la chicha de jora, bebida fermentada elaborada artesanalmente en Vinchoa, cantón Guaranda, provincia Bolívar, que forma parte de la región andina del Ecuador.

La muestra de la chicha de jora fermentada fue conservada durante un período de dos meses en condiciones naturales. Esta muestra fue seleccionada intencionalmente por su relevancia cultural y microbiológica, utilizada como material base para el aislamiento y análisis de microorganismos.

### 3.3 Los métodos y técnicas

La presente investigación adoptó un enfoque experimental para la caracterización microbiológica de la chicha de jora. A continuación, se detallan las

técnicas e instrumentos utilizados, así como los procedimientos específicos para el aislamiento e identificación de microorganismos.

Para la recolección de datos microbiológicos, se empleó la técnica de siembra por estrías en placas Petri. Esta técnica se realizó utilizando cuatro medios de cultivos sólidos distintos, seleccionados para facilitar el aislamiento y la identificación macroscópica de los microorganismos predominantes en la chicha de jora.

Los instrumentos, equipos utilizados corresponden a material de laboratorio microbiológico estándar, garantizando la esterilidad y precisión en cada fase del estudio. Estos incluyeron:

- Placas Petri estériles
- Asas de siembra calibradas
- Mechero Bunsen
- Cabina de flujo laminar
- Incubadora
- Pipetas estériles
- Balanza analítica
- Autoclave
- Microscopio óptico
- Tubos de ensayo
- Frascos de laboratorio (250 ml)
- Material de tinción (cristal violeta, Lugol, alcohol-acetona, safranina)
- Reactivos (peróxido de hidrógeno, suero fisiológico, agua destilada)
- Parafilm

Las observaciones del crecimiento microbiano se realizaron de forma macroscópica, registrando meticulosamente características clave como la forma,

color, textura y el número estimado de colonias presentes en cada medio de cultivo. Estas observaciones iniciales fueron complementadas con análisis microscópicos y pruebas bioquímicas.

## **Procedimientos**

Los procedimientos se llevaron a cabo siguiendo un cronograma de tres días, enfocado en el aislamiento, cultivo y caracterización preliminar de los microorganismos.

### **Aislamiento de microorganismos**

Se utilizaron diferentes medios de cultivos selectivos y diferenciales para favorecer el crecimiento de los grupos microbianos de interés, específicamente bacterias lácticas y levaduras.

Día 1: Preparación de medios de cultivo y siembra inicial

Preparación de medios de cultivo:

Se pesaron con precisión los siguientes medios de cultivo deshidratados, utilizando una balanza analítica:

- Buffered Peptone *Water* (BPW): 10 g para 250 mL (medio de preenriquecimiento para la recuperación de células dañadas y crecimiento microbiano general).
- Sabouraud Dextrose Agar (SDA): 16 g para 250 mL (medio selectivo para levaduras y hongos).
- Nutrient Agar (NA): 7 g para 250 mL (medio no selectivo para el crecimiento bacteriano general).
- Lactobacilli MRS Agar (MRS): 35 g para 250 mL (medio selectivo para el aislamiento y cultivo de *Lactobacillus* spp.).

- Cada medio pesado se disolvió en 250 mL de agua destilada en frascos de 250 mL, agitando hasta obtener una suspensión homogénea.
- Las soluciones se calentaron en un microondas hasta alcanzar el punto de ebullición, asegurando la disolución completa de los componentes.
- Posteriormente, los frascos fueron autoclavados a 121 °C y 15 psi durante 15 minutos para su esterilización.
- Una vez atemperados, los medios de cultivo estériles se dispensaron en placas Petri estériles (aproximadamente 7 placas por cada tipo de medio). Las placas se sellaron con Parafilm una vez solidificados y se almacenaron en refrigeración hasta su uso.

#### **Siembra directa (Actividad 2):**

- Empleando asas de siembra estériles de 3  $\mu$ L, se realizó una siembra por estrías de la muestra de chicha de jora sobre la superficie de dos placas Petri de cada tipo de medio de cultivo sólido (MRS y NA).
- Las placas inoculadas con MRS y NA se incubaron a 34.2 °C por 24 a 48 horas.
- Las placas inoculadas con SDA se incubaron a 32 °C por 48 a 72 horas.

#### **Preparación del medio de preenriquecimiento (Actividad 3):**

- En un tubo de ensayo estéril, se añadieron 9 mL de Buffered Peptone Water.
- Seguidamente, se incorporó 1 mL de la muestra de chicha de jora, utilizando una jeringa estéril de 10 mL.
- La mezcla se homogeneizó, se cubrió con papel de aluminio y se incubó a 34.2 °C durante 24 horas.

## Día 2: Evaluación de crecimiento y siembra de preenriquecimiento

- Se revisaron las placas de MRS y NA de la siembra directa. Al no observarse crecimiento microbiano, estas placas fueron descartadas.
- En el caso del SDA, se visualizó un crecimiento incipiente de levaduras, por lo que se mantuvo en incubación por 24 horas adicionales.
- Siembra a partir del preenriquecimiento:
  - Utilizando asas de siembra estériles y bajo condiciones de esterilidad (proximidad a un mechero Bunsen), se realizó una siembra por estrías del cultivo preenriquecido en BPW sobre placas Petri con los medios de cultivo MRS y SDA.
  - Se prepararon tres muestras por cada tipo de medio. Dos de estas muestras sembradas en MRS fueron colocadas en una cámara de anaerobiosis junto con sobres CampyGen para generar una atmósfera enriquecida en CO<sub>2</sub> y favorecer el aislamiento de *Lactobacillus* spp.
  - Las placas se incubaron a 34.8 °C (MRS) y 32 °C (SDA).

## Día 3: Análisis macroscópico, microscópico y bioquímico preliminar

- Se procedió al análisis de las placas de SDA que mostraron crecimiento de levaduras tras 48 horas de incubación.

### 1. Observación microscópica con suero fisiológico:

- En un portaobjetos limpio, se depositó una gota de suero fisiológico.
- Con un palillo estéril, se tomó una pequeña porción de las colonias de levadura y se mezcló con el suero fisiológico para preparar un frotis.
- El frotis se extendió uniformemente y se dejó secar al aire para su fijación.

- Se añadió una gota de azul de violeta (cristal violeta) durante dos minutos, se enjuagó suavemente con agua destilada y se secó.
- La muestra se observó bajo un microscopio óptico con el objetivo de 100x (inmersión) para visualizar la morfología de las levaduras.

## 2. Prueba de catalasa:

- En un portaobjetos estéril (bajo las condiciones de esterilidad provistas por el mechero Bunsen), se depositó una pequeña porción de la colonia de levadura.
- Se añadió una gota de peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) al 3%. La formación de burbujas (desprendimiento de oxígeno) se interpretó como una reacción positiva, indicativa de la presencia de la enzima catalasa, característica en muchos microorganismos.

## 3. Tinción de Gram:

- Preparación del Frotis: En un portaobjetos limpio, se colocó una gota de suero fisiológico. Con un palillo estéril, se transfirió una pequeña cantidad del cultivo bacteriano (en caso de haber crecimiento bacteriano) y se mezcló para obtener un frotis delgado.
- Fijación del Frotis: El portaobjetos se pasó suavemente 2-3 veces por la llama del mechero Bunsen (lado del frotis hacia arriba, evitando la incineración de la muestra) para fijar las células bacterianas.
- Coloración con Cristal Violeta: Se cubrió el frotis con cristal violeta durante 1 minuto y se enjuagó con agua destilada.
- Aplicación de Lugol: Se cubrió el frotis con Lugol (solución de yodo) durante 1 minuto y se enjuagó con agua destilada.

- Decoloración: Se añadió alcohol-acetona (decolorante) durante 15-30 segundos, o hasta que el colorante dejara de desprenderse. Este paso es crítico para diferenciar bacterias Gram positivas de Gram negativas. Se enjuagó inmediatamente con agua destilada.
- Contraintinción: Se cubrió el frotis con safranina durante 1 minuto, se enjuagó con agua destilada y se dejó secar al aire.
- Observación al Microscopio: El portaobjetos se colocó en el microscopio óptico y se observó con el objetivo de 100x (inmersión) para la identificación morfológica y la tinción de Gram de los microorganismos presentes.

### 3.4 Procesamiento estadístico de la información

Dado el diseño metodológico presentado, el procesamiento estadístico de la información se centró principalmente en estadísticas descriptivas para caracterizar los microorganismos aislados. A continuación, se detalla cómo se abordó este procesamiento, considerando los datos que se obtuvieron de las observaciones macroscópicas, microscópicas y pruebas bioquímicas preliminares.

#### 1. Datos recolectados y organizados

Para un adecuado procesamiento, fue crucial que los datos se registraran de manera sistemática. Se sugirió la creación de tablas o matrices de datos para cada tipo de observación.

- Observaciones Macroscópicas:
  - Medio de cultivo (SDA, MRS, NA).
  - Forma de la colonia (ej. circular, irregular, filamentosa).
  - Color de la colonia (ej. blanco, crema, rosado).
- Observaciones Microscópicas (Tinción de Gram y observación con suero fisiológico):

- Morfología celular (ej. cocos, bacilos, levaduras).
- Reacción de Gram (Gram positiva, Gram negativa, no aplica para levaduras).
- Prueba de Catalasa:
  - Resultado (Positivo: burbujeo / Negativo: no burbujeo).

## 2. Análisis estadístico descriptivo

El análisis descriptivo permitió resumir y visualizar las características de los microorganismos encontrados.

## CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados

### 4.1 Análisis e interpretación de Resultados

Tabla 2: Resultados del análisis

<u>Medio de Cultivo Utilizado</u>	<u>Observaciones Macroscópicas de Colonias</u>	<u>Tinción de Gram (Microscopía)</u>	<u>Microorganismos Encontrados</u>
Nutri Agar	Crecimiento diverso de colonias (blancas, cremosas, opacas, translúcidas)	<b>Bacterias Gram positivas</b> (bacilos)	<i>Lactobacillus</i> spp., entre otros.
Agar MRS (Man Rogosa Sharpe)	Colonias pequeñas, blanquecinas, a menudo cremosas.	<b>Bacterias Gram positivas</b> (bacilos)	<i>Lactobacillus</i> spp.
Agar Dextrosa Sabouraud	Colonias grandes, lisas, de color blanco a crema, con olor a levadura.	<b>Levaduras</b> (células ovaladas, a menudo con gemación) <b>Bacterias Gram negativas</b> (bacilos)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Acetobacter</i> spp

### 4.2 Resumen de los resultados

La tabla muestra los resultados obtenidos al cultivar muestras de chicha de jora fermentada en diferentes medios de cultivo sólidos. Los datos incluyen:

#### Medios de cultivo utilizados:

- Nutri Agar
- Agar MRS (Man Rogosa Sharpe)

- Agar Dextrosa Sabouraud

Observaciones macroscópicas: Descripción del aspecto de las colonias (tamaño, forma, color, textura).

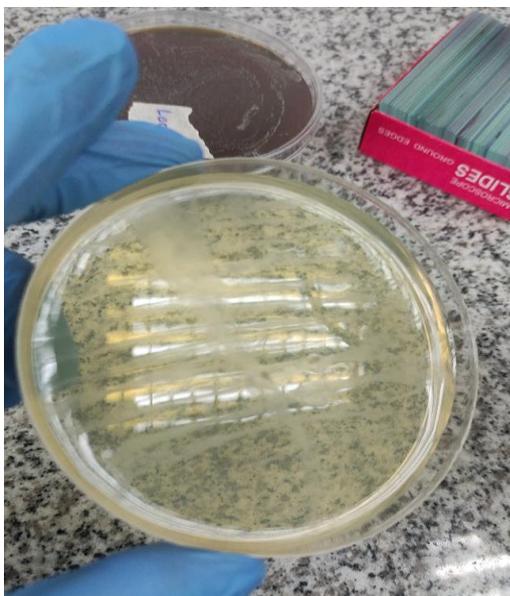
Tinción de Gram: Identificación de las características morfológicas y fisiológicas de los microorganismos (Gram positivos o negativos).

Microorganismos presuntivos encontrados: Identificación tentativa basada en las observaciones macroscópicas y la tinción de Gram.

### 4.3 Análisis detallado por medio de cultivo

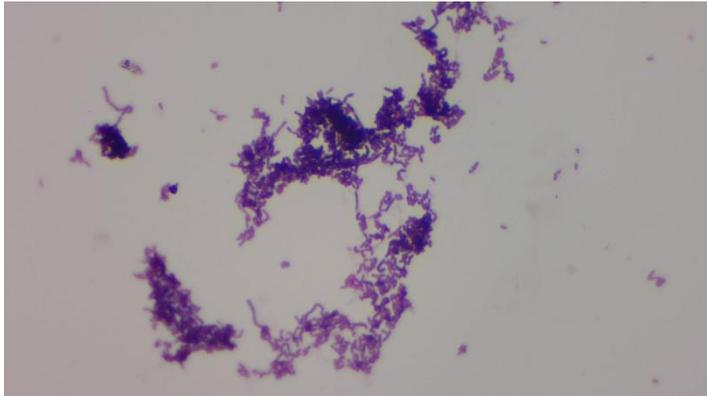
#### a) Nutri Agar

**Figura 2:** Observaciones macroscópicas



- Se observó un crecimiento diverso de colonias con variedad en color (blancas, cremosas, opacas, translúcidas).
- Tinción de Gram: Las bacterias fueron identificadas como Gram positivas (bacilos).

**Figura 3:** Microorganismos presuntivos



- Se sugiere la presencia de *Lactobacillus spp.* , entre otros.

#### **Interpretación:**

El Nutri Agar, está elaborado con diversos nutrientes que permiten el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos que normalmente no requieren nutrientes o suplementos específicos (Sapkota, 2022) permitió detectar una comunidad microbiana rica y diversa, principalmente compuesta por bacterias Gram positivas. La presencia de *Lactobacillus spp.* es previsto, dado que estas bacterias son comunes en fermentaciones lácticas, como la chicha de jora. Sin embargo, la diversidad de colores y texturas indica que podrían existir otras especies bacterianas no específicamente identificadas en este análisis.

#### **b) Agar MRS (Man Rogosa Sharpe)**

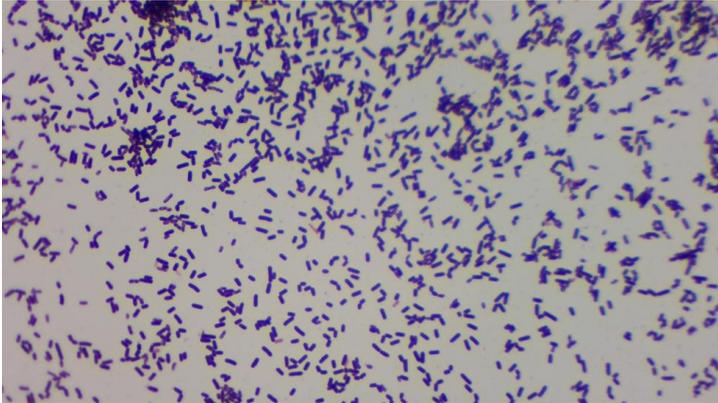
**Figura 4:** Observaciones macroscópicas Gram positivas



- Colonias pequeñas, blanquecinas, a menudo cremosas.

- Tinción de Gram: También se identificaron bacterias Gram positivas (bacilos).

**Figura 5:** Microorganismos presuntivos *Lactobacillus spp.*



**Interpretación:**

El Agar MRS es un medio selectivo diseñado específicamente para el crecimiento de bacterias lácticas, lo que explica la predominancia de *Lactobacillus spp.* en este medio. Las colonias pequeñas y cremosas son características típicas de estas bacterias. Este resultado confirma la presencia de lactobacilos en la chicha de jora, lo cual es consistente con su rol en la fermentación láctica.

**c) Agar Dextrosa Sabouraud**

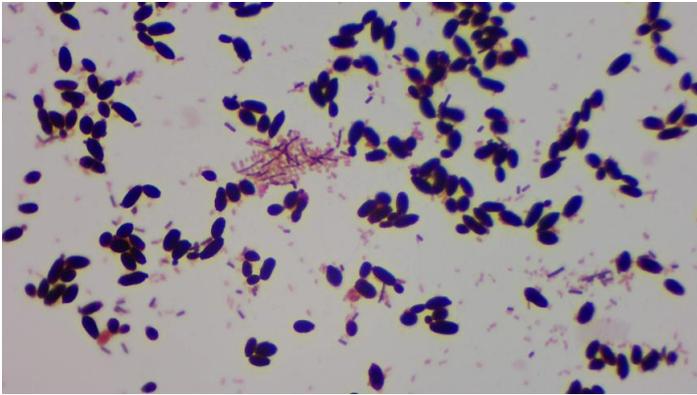
**Figura 6:** Observaciones macroscópicas Gram negativas



- Colonias grandes, lisas, de color blanco a crema, con olor a levadura.

- Tinción de Gram: Se identificaron tanto levaduras (celulas ovaladas, a menudo con gemación) como bacterias Gram negativas (bacilos).

**Figura 7:** Microorganismos presuntivos: *Saccharomyces cerevisiae* y *Acetobacter spp.*



#### **Interpretación:**

El Agar Dextrosa Sabouraud es un medio selectivo para levaduras y hongos, pero también puede favorecer el crecimiento de ciertas bacterias Gram negativas. Las colonias grandes, lisas y blancas son características típicas de *Saccharomyces cerevisiae* una levadura común en fermentaciones de productos lácteos y bebidas tradicionales. Además, la presencia de *Acetobacter spp.* es interesante, ya que estas bacterias pueden estar involucradas en procesos secundarios de fermentación, como la conversión de alcohol en ácido acético.

## Prueba de Catalasa

**Figura 8:** Prueba de Catalasa: Positivo



### Interpretación:

La prueba de catalasa se realizó para determinar la presencia de la enzima catalasa en los microorganismos aislados. Se observó una formación inmediata y vigorosa de burbujas al añadir una gota de peróxido de hidrógeno (agua oxigenada al 3%) sobre una pequeña porción de la colonia en un portaobjetos estéril. Esta efervescencia fue indicativa del desprendimiento de oxígeno, confirmando la actividad catalasa de los microorganismos. Este resultado sugiere que los microorganismos en cuestión son capaces de descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, una característica común en muchos microorganismos aerobios y facultativos, incluyendo ciertas levaduras y bacterias que producen esta enzima como mecanismo de defensa contra el estrés oxidativo.

#### 4.4 Comparación entre los medios de cultivo

Tabla 3: Comparación entre los medios de cultivo

<u>Característica</u>	<u>Nutri Agar</u>	<u>Agar MRS</u>	<u>Agar Dextrosa Sabouraud</u>
Tipo de microorganismo predominante	Bacterias Gram positivas ( <i>Lactobacillus spp.</i> )	Bacterias Gram positivas ( <i>Lactobacillus spp.</i> )	Levaduras ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) y bacterias Gram negativas ( <i>Acetobacter spp.</i> )
Diversidad observada	Alta diversidad (variedad de colores y texturas)	Baja diversidad (colonias homogéneas)	Diversidad mixta (levaduras y bacterias)
Selectividad del medio	Generalista	Selectivo para bacterias lácticas	Selectivo para levaduras y hongos

#### Interpretación:

- El Nutri Agar, siendo un medio generalista, permitió detectar una mayor diversidad de microorganismos, incluyendo diversas cepas de bacterias Gram positivas.
- El Agar MRS, como medio selectivo para bacterias lácticas, confirmó la presencia de *Lactobacillus spp.*, lo que refuerza su papel clave en la fermentación de la chicha de jora.
- El Agar Dextrosa Sabouraud, diseñado para levaduras, también reveló la presencia de *Acetobacter spp.*, lo que sugiere que estos microorganismos podrían estar involucrados en etapas posteriores de la fermentación o en condiciones ambientales específicas.

#### 4.5 Ensayo en los sistemas agrícolas locales

Para evaluar la actividad bioherbicida de la chicha de jora fermentada y, consecuentemente, identificar malezas susceptibles a su aplicación, se realizó un ensayo preliminar en un área de 1 m<sup>2</sup> dentro de un sistema agrícola local en Vinchoa, Guaranda, Bolívar, Ecuador. En esta parcela se aplicó directamente la chicha de jora fermentada. Tras un período de cinco días post-aplicación, se observó la muerte de las malezas presentes en el área tratada. Las especies de malezas afectadas identificadas fueron las siguientes: *Rumex crispus* (lengua de vaca), *Galinsoga parviflora* (huasca), *Digitaria sanguinalis* (pata de gallina) y *Trifolium repens* (trébol blanco).

**Figura 9:** Área delimitada de 1 m<sup>2</sup>



**Interpretación:**

En un área experimental de 1 m<sup>2</sup>, se aplicó chicha de jora fermentada directamente sobre el suelo y la vegetación presente, sin diluir ni añadir compuestos adicionales. A los cinco días posteriores a la aplicación, se observó la muerte total de las malezas tratadas, evidenciando un efecto fitotóxico claro.

El ensayo preliminar de campo permitió abordar el tercer objetivo específico, que consistía en seleccionar especies de malezas comunes para ensayos de actividad bioherbicida. La metodología empleada, al aplicar directamente la chicha de jora fermentada y observar sus efectos, permite identificar y por ende "seleccionar" aquellas malezas que demostraron ser susceptibles a su acción.

**Figura 10:** Resultado de la aplicación del bioherbicida



**Interpretación:**

La observación de la muerte de *Rumex crispus*, *Galinsoga parviflora*, *Digitaria sanguinalis* y *Trifolium repens* en la parcela tratada, tras la aplicación de la chicha de jora fermentada, valida la selección de estas especies como candidatas relevantes para futuros estudios de control biológico. Estas malezas son comunes en los sistemas agrícolas de la zona de Vinchoa, Guaranda, Bolívar, y representan problemas significativos para los cultivos locales. La respuesta observada indica que los microorganismos y/o sus metabolitos presentes en la chicha de jora tienen un potencial bioherbicida sobre estas especies específicas.

Este resultado es crucial porque no solo identifica malezas sensibles, sino que también sugiere la viabilidad de la chicha de jora como una fuente de agentes de control biológico. La efectividad observada en tan solo cinco días resalta la potencia de la formulación aplicada. Los resultados preliminares abren la puerta a ensayos más controlados, donde se pueda investigar el mecanismo de acción, las dosis óptimas, la especificidad de los microorganismos aislados y los metabolitos involucrados, así como el impacto en diferentes etapas de desarrollo de estas malezas.

## CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones

### 5.1 Discusión

El presente estudio tuvo como propósito caracterizar la microbiota presente en una muestra de chicha de jora fermentada artesanalmente en Vinchoa, Guaranda, para explorar su potencial como agente de control biológico de malezas en sistemas agrícolas sostenibles. A través de un enfoque descriptivo y experimental, se logró aislar, caracterizar preliminarmente diferentes grupos microbianos, revelando su diversidad y posible funcionalidad como un bioherbicida.

Inicialmente, los cultivos directos en medios MRS y Nutri Agar (NA) no mostraron crecimiento visible, lo cual puede atribuirse a una baja concentración de microorganismos viables, posiblemente debido a condiciones de almacenamiento, estrés ambiental, o competencia microbiana en la bebida. No obstante, el uso de un preenriquecimiento en Buffered Peptone Water (BPW) resultó ser una estrategia efectiva para la recuperación de microorganismos viables, destacando la importancia de esta etapa en muestras fermentadas tradicionales.

Tras el preenriquecimiento, se observó crecimiento microbiano significativo en medios específicos. En SDA, se evidenció el desarrollo de colonias características de levaduras, confirmadas por morfología microscópica y prueba de catalasa positiva, lo que sugiere la presencia de especies como *Saccharomyces cerevisiae*. En MRS, bajo condiciones de anaerobiosis, se aislaron bacterias Gram positivas compatibles con *Lactobacillus spp.*, lo cual coincide con su papel conocido en procesos fermentativos.

En Nutri Agar se registró una diversidad notable de colonias, lo que refleja la naturaleza mixta y variada de la microbiota presente en la chicha de jora. Esta observación es coherente con la literatura, que reporta que productos fermentados

tradicionales albergan una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias lácticas, levaduras y ocasionalmente bacterias acéticas.

A través de la combinación de observación macroscópica, tinción de Gram y pruebas bioquímicas básicas (como la catalasa), se identificaron presuntivamente los siguientes microorganismos: *Lactobacillus spp.*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Acetobacter spp.* Esta composición coincide con los microorganismos comúnmente asociados a procesos de fermentación espontánea en bebidas tradicionales andinas.

El hallazgo de *Acetobacter spp.* en el medio SDA es especialmente interesante, ya que estas bacterias acéticas, aunque menos estudiadas en el contexto de bioherbicidas, pueden producir metabolitos secundarios con efectos biocidas, incluyendo ácidos orgánicos y compuestos fenólicos. Asimismo, la actividad catalasa positiva observada en las levaduras podría relacionarse con mecanismos antioxidantes relevantes frente al estrés oxidativo en ambientes agrícolas.

El ensayo preliminar realizado en un sistema agrícola local permitió observar un efecto fitotóxico evidente tras la aplicación directa de chicha de jora fermentada sobre una parcela de 1 m<sup>2</sup>. En un plazo de cinco días, se produjo la muerte de malezas comúnmente presentes en la zona, tales como *Rumex crispus*, *Galinsoga parviflora*, *Digitaria sanguinalis* y *Trifolium repens*. Este resultado confirma un potencial efecto bioherbicida, probablemente asociado a metabolitos producidos por los microorganismos presentes en la fermentación.

Cabe destacar que la chicha aplicada no fue diluida ni tratada, lo que sugiere una alta concentración de compuestos activos. Este efecto podría estar mediado por la producción de ácidos orgánicos, alcoholes, peróxidos o compuestos volátiles generados durante la fermentación, cuya acción combinada afectaría la viabilidad de las malezas.

La efectividad observada en campo, junto con la identificación de microorganismos con capacidades metabólicas relevantes, respalda la hipótesis de que la chicha de jora fermentada puede ser una fuente viable de agentes bioherbicidas. Esta alternativa biológica representa un enfoque sostenible, accesible y culturalmente apropiado para el manejo de malezas en zonas rurales andinas.

Sin embargo, se requiere avanzar hacia una identificación molecular precisa de los microorganismos involucrados, la estandarización de los procesos de fermentación, y la evaluación controlada de los metabolitos responsables del efecto herbicida. Asimismo, es fundamental investigar la especificidad del efecto sobre distintas especies de malezas, su impacto en cultivos, y la persistencia en el ambiente.

Una limitación importante fue el enfoque preliminar y observacional del ensayo de campo, sin un control comparativo ni réplicas que permitan análisis estadísticos robustos. Además, la caracterización microbiana fue presuntiva, sin identificación molecular, lo que restringe las conclusiones sobre especies específicas responsables del efecto bioherbicida.

## 5.2 Conclusiones

- Se logró el aislamiento y la identificación presuntiva de una diversidad de microorganismos, incluyendo *Lactobacillus spp.* (bacterias Gram positivas), *Saccharomyces cerevisiae* (levaduras), y *Acetobacter spp.* (bacterias Gram negativas), a partir de la chicha de jora fermentada, utilizando Nutri Agar, Agar MRS y Agar Dextrosa Sabouraud como medios de cultivo.
- Las levaduras aisladas, y probablemente otros microorganismos, exhibieron una prueba de catalasa positiva, indicando su capacidad para producir la enzima catalasa, lo cual es relevante para su metabolismo y supervivencia en ambientes diversos.
- Un ensayo preliminar de campo demostró la efectividad de la chicha de jora fermentada como agente bioherbicida, causando la muerte de malezas comunes como *Rumex crispus*, *Galinsoga parviflora*, *Digitaria sanguinalis* y *Trifolium repens* en un área de 1 m<sup>2</sup> en tan solo cinco días post-aplicación, validando así su potencial para el control biológico en sistemas agrícolas sostenibles.

### 5.3 Recomendaciones

- Se recomienda realizar una identificación molecular precisa (ej. secuenciación de 16S rRNA para bacterias y ITS para levaduras) de los *Lactobacillus spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, y *Acetobacter spp.* aislados, así como cuantificar sus poblaciones en la chicha de jora para entender su contribución individual o sinérgica al efecto bioherbicida.
- Es fundamental diseñar y ejecutar ensayos más controlados y a diferentes escalas (in vitro, invernadero y campo) para determinar las dosis óptimas de aplicación de la chicha de jora o de sus aislados microbianos que generen el efecto bioherbicida deseado. Además, se sugiere investigar el mecanismo de acción específico, incluyendo la cuantificación de metabolitos secundarios como el ácido acético y otros compuestos con potencial alelopático.
- Antes de recomendar su aplicación a gran escala, se debe evaluar la selectividad de la chicha de jora fermentada y de sus microorganismos aislados, para asegurar que no afecten negativamente a los cultivos de interés. Asimismo, es importante estudiar el impacto a largo plazo en la salud del suelo y la microbiota benéfica del agroecosistema.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aktar, W. S. (2009). *Impacto del uso de pesticidas en la agricultura: sus beneficios y peligros*. doi:10.2478/v10102-009-0001-7
- Alltech. (2021). *Microorganismos, metabolitos y salud vegetal*. Alltech Crop Science. Obtenido de <https://www.alltech.com/es-es/blog/microorganismos-metabolitos-y-salud-vegetal>
- Altieri, M. A. (2018). *Agroecology: The Science of Sustainable Agriculture*. CRC Press.
- Bailey, K. L. (2014). *Gestión integrada de plagas*. Cambridge, MA, EE.UU.: Academic Press.
- Benítez, T., & Rincón, A. (2003). *Bioherbicidas: An alternative to chemical herbicides*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Recuperado el 2025
- Björkroth, J., & Holzapfel, W. (2006). *Genera Leuconostoc, Oenococcus and Weissella*. New York. doi:doi 10.1007/0-387-30744-3
- Bustos, B. (2017). *Desarrollo de Streptomyces: regulación y aplicaciones industriales*. Canada, P. H. (2011). *Candida albicans*. Pathogen Safety Data Sheets.
- Cervantes-Pahm, S. K. (2015). *Use of acetic acid in sustainable weed management*. Agriculture and Agricultural Science Procedia.
- Cuervo, S., Cortés, J., Rodríguez, R., Hormaza, N., & Vargas, E. (2008). «*Leuconostoc sp in cancer patients: a descriptive study*». Revista Chilena de Infectología (Sociedad Chilena de Infectología).
- Díaz, A., & Pérez, A. (2018). *Efectividad de los microorganismos en la chicha de jora para el control de malezas en cultivos agrícolas andinos*. Revista de Agricultura Sostenible.
- Díaz Rodríguez, P. (2018). *Traditional fermented beverages in Latin America: A rich source of microbes and bioactive compounds*. Frontiers in Microbiology.
- Duke, S. (2023). *Why Are There No Widely Successful Microbial Bioherbicidas for Weed Management in Crops?* Pest Manag. doi:10.1002/ps.7595
- FAO. (s.f.). Recuperado el 2025, de <https://www.fao.org/4/y5031s/y5031s0f.htm>
- Fredlund, E., Druvefors, U., Boysen, M., & Lingsten, K. &. (2002). *Physiological characteristics of the biocontrol yeast Pichia anomala*. FEMS Yeast Res.
- Frick, B., & Johnson, E. (2002). *Control biológico de malezas*. FIAC-S (Fondo de Innovación Agroalimentaria Canadá-Saskatchewan).

- García, M., Rodríguez, J., & Salinas, R. (2020). *Uso de Pseudomonas fluorescens como bioherbicida en cultivos de maíz*. Revista de Fitoprotección Andina.
- Goffeau, A. B. (1996). *Vida con 6000 genes*.
- Gomes, F. L. (2009). *Traditional foods and beverages from South America: microbial communities and production strategies*. Industrial Fermentation: Food Processes, Nutrient Sources and Production Strategies.
- González, L. A., & Vargas, M. E. (2015). *Microorganismos beneficiosos en productos fermentados y su impacto en la agricultura sostenible*. Boletín de Investigación Agrícola.
- Hernández, J. L. (2019). *Control biológico de malezas mediante agentes naturales*. Editorial Universitaria.
- Hyde, K. (2022). *El número de hongos*. Fungal Divers. doi:10.1007/s13225-022-00507
- Instituto Europeo de Química, F. y. (2023). *¿Qué son las bacterias lácticas y para qué sirven?* Lérida. Obtenido de <https://ieqfb.com/que-son-bacterias-lacticas/>
- Jacobsen, I. D. (2012). *Candida albicans dimorphism as a therapeutic target*. doi:10.1586/eri.11.152.
- Karthick, R., Namasivayam, S., B., D., Arvind, R., Samrat, K., Kavisri, M., & Moovendhan, M. (2023). *Impacto de la formulación en la actividad herbicida basada en biomasa fúngica y la producción de metabolitos fitotóxicos*.
- Kijac, M. B. (2003). *The South American table: The Flavor and Soul of Authentic Home Cooking From Patagonia to Rio de Janeiro, With 450 Recipes*. Boston, Massachusetts: The Harvard Common Press.
- Kogut, P. (2025). *La Agricultura Sostenible: Un Nuevo Concepto De Cultivo*. EOS Data Analytics, Inc.
- Kubicek, C., Starr, T., & Glass, N. (2014). *Enzimas degradantes de la pared celular vegetal y su secreción en hongos fitopatógenos*. Rev. Phytopathol. doi:10.1146
- LESAFFRE. (2020). *¿Quién es Saccharomyces cerevisiae, la estrella del mundo de las levaduras?* Lesaffre International.
- Litchfield, J. (1983). *Single cell protein*. Science.
- Litoral), F. -U.-U. (2023). *Mundo microscópico I: la levadura*. CONICET-CIIDEPT. Obtenido de <https://www.fiq.unl.edu.ar/culturacientifica/extension-fiq/mundo-microscopico-i-la-levadura/>

- López, A., & Zavaleta, M. (2016). *Caracterización microbiológica de la chicha de jora en la región Cusco*. Cusco - Perú: Revista Peruana de Microbiología Aplicada.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms*. Pearson.
- Madigan, M., & Martinko, J. (2005). *Brock Biology of Microorganisms (11th ed. edición)*. Prentice Hall.
- Masoud, W., Cesar, L., & Jespersen, L. &. (2004). *Yeast involved in fermentation of Coffea arabica in East Africa determined by genotyping and by direct denaturing gradient gel electrophoresis*. Yeast.
- Mendoza, L. M., Neef, A., Vignolo, G., & Belloch, C. (2017). *Yeast diversity during the fermentation of Andean chicha: A comparison of high-throughput sequencing and culture-dependent approaches*. Food microbiology.
- Mo, E., Lee, J., Xu, B., Lee, B., Moon, Y., & Sung, C. (2004). *Effect of Pichia farinosa SKM-1, Pichia anomala SKM-T, and Galactomyces geotrichum SJM-59 on ammonia reduction and laying performance*. J Microbiol Biotechnol.
- Nichols V., V. N. (2015). *Dinámica de la maleza y principios de agricultura de conservación: Revisión*. Reseña de cajones de campo. doi:10.1016/j.fcr.2015.07.012.
- Oerke, E. (2006). *Pérdidas de cosechas a plagas*. J. Agric. Sci. doi:10.1017/S0021859605005708
- Parapouli, M. V. (2020). *Saccharomyces cerevisiae y sus aplicaciones industriales*. AIMS microbiology.
- Passoth, V., & Schnürer, J. (2003). *Non-conventional yeasts in antifungal application. Functional Genetics of Industrial Yeasts*. Springer Verlag, Berlin: DeWinde JH.
- Pham, H. T., & Maalej, H. (2019). *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Systematics*. Springer.
- Pontón, J. M. (2002). *Hongos y actinomicetos alergénicos*. Revista Iberoamericana de Micología.
- Poudel M., M. R. (2021). *The Role of Plant-Associated Bacteria, Fungi, and Viruses in Drought Stress Mitigation*. Front. Microbiol. .
- Raza, T. (2025). *Bioherbicidas: revolucionando la gestión de la maleza para la agricultura sostenible en la era de la salud única*. Brasil: ScienceDirect. doi:10.1016/j.crmicr.2025.100394

- Reyes, L., & Paredes, C. (2021). *Efecto de Trichoderma harzianum en el crecimiento de malezas gramíneas*. Revista de Agricultura Sostenible.
- Saati, Z., Selem, N., Peral, E., Rivas, R., & García, P. (2022). «Unveiling the genomic potential of Pseudomonas type strains for discovering new natural products». Microbial Genomics. doi:10.1099/mgen.0.000758
- Salazar, D., Ramos, K., & Ponce, J. (2019). *Diversidad microbiana en bebidas fermentadas tradicionales del Perú*. AgroBioPerú.
- Sapkota, A. (2022). *Agar nutritivo: principio, composición, preparación, resultados y usos*. Microbe Notes.
- Sekhar , J. C., Sandhya, S., Vinod , K. R., & Banji , D. (2012). *Efectos útiles y perjudiciales para toxinas vegetales*. Hygeia. J. D. - Med.
- Silva, S. N. (2012). *Candida glabrata, Candida parapsilosis and Candida tropicalis: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance*. FEMS Microbiology reviews. doi:10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x.
- Sionek, B., & Szydłowska, A. (2023). *Microorganismos tradicionales y nuevos en la Fermentación de alimentos por ácido láctico*. doi:10.3390/fermentation9121019
- Steinkraus, K. (1995). *Handbook of Indigenous Fermented Foods, revised and expanded*. New York: Marcel Dekker.
- Suzuki, K., Kazumaru, I., Kanta, S., Sami, M., & Hiroshi, Y. (2006). *Revisión de la resistencia del lúpulo en bacterias lácticas que deterioran la cerveza*. Journal of the Institute of Brewing .
- Torres, F. (2017). *Bioinsumos de origen campesino en fincas agroecológicas del Ecuador*. Agroecología Latinoamericana.
- Vagiakou, E., Mylona, D., Kalogeropoulou, E., Chantzis, A., Chini, S., Tsiodra, P., & Malamou, E. (2002). «Multiple liver abscesses associated with bacteremia due to Leuconostoc lactis». Scandinavian Journal of Infectious Diseases. doi:doi:10.1080/00365540260348572
- Villalobos, J., & Méndez, R. (2018). *Actividad alelopática de cepas de Bacillus subtilis contra Amaranthus spinosus en sistemas agrícolas sostenibles*. Revista Latinoamericana de Agricultura Ecológica.
- Villarreal, M., Villa, E., Cira, L., Estrada, M., F.I., P., & Santos, S. (2018). *El género Bacillus como agente de control biológico y sus implicaciones en la*

*bioseguridad agrícola. Revista mexicana de fitopatología.*

doi:<https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>

Wood, V. R. (2001). *Una reanotación del genoma de Saccharomyces cerevisiae.*

Genómica comparativa y funcional.

## ANEXOS

### Anexo 1.

#### Actividades realizadas en el laboratorio y en el campo.



**Figura a:** La jora constituye el insumo base fundamental para la ejecución del proyecto de investigación.



**Figura b:** Delimitación de un área de 1 m<sup>2</sup> en campo con cinta métrica para la ejecución del ensayo.



**Figura c:** Ensayo a nivel de campo



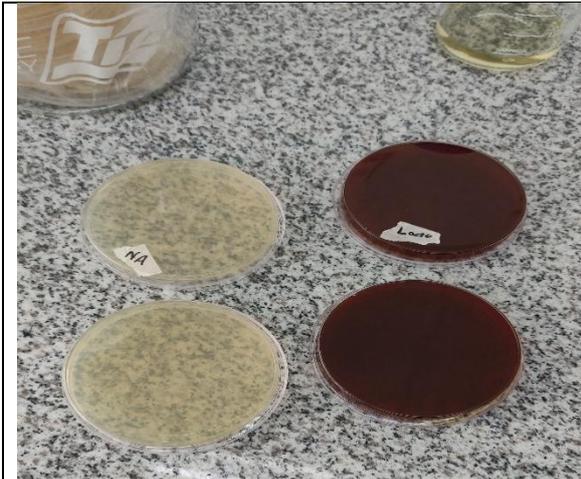
**Figura d:** Transcurridos cinco días desde la aplicación del bioherbicida, se evidenció la muerte de las plantas en el área tratada.



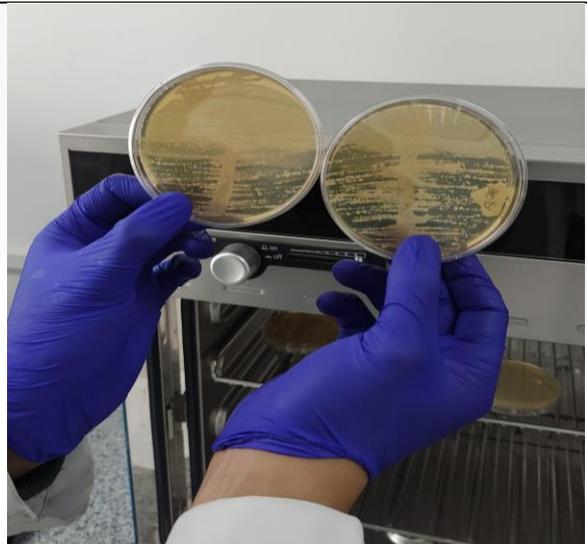
**Figura e:** Medios de cultivo empleados para el aislamiento y crecimiento de microorganismos durante la fase experimental en laboratorio.



**Figura f:** El medio de cultivo se encuentra en estado líquido tras su esterilización, listo para ser distribuido en cajas Petri para el posterior crecimiento microbiano.



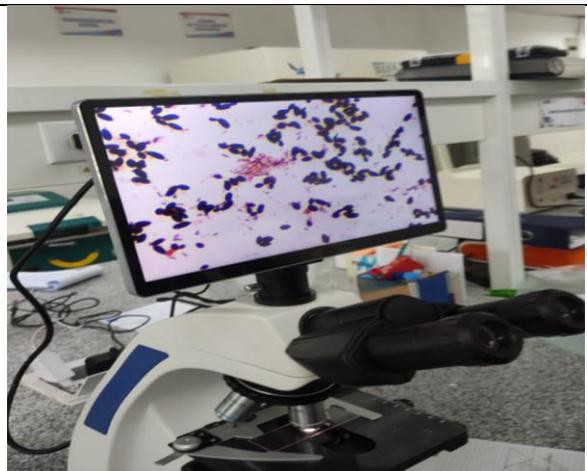
**Figura g:** En ninguno de los dos medios de cultivo se observó crecimiento microbiano tras la siembra directa, lo que sugiere ausencia de microorganismos viables en la muestra evaluada.



**Figura h:** Se observó crecimiento microbiano en el medio Sabouraud Dextrosa Agar, lo que indica la presencia de hongos o levaduras en la muestra analizada.



**Figura i:** Reactivos utilizados para la tinción de Gram: cristal violeta, lugol (solución de yodo), alcohol decolorante y safranina, necesarios para diferenciar bacterias Gram positivas y Gram negativas.



**Figura j:** Presencia de levaduras y hongos observada al microscopio óptico con aumento de 100x.

## Anexo 2.

### Autorización para el uso del Laboratorio de Investigación



DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN  
Y VINCULACIÓN

Oficio No. UEB-DIV-AU-2025-044  
Guaranda, 2 de junio de 2025

#### AUTORIZACIÓN USO DE LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN

Tras la revisión y aprobación de la solicitud del Dr. C. Gustavo Elias Martínez Valenzuela, con CI. 0922079595, Coordinador de la Maestría en Biotecnología Universidad Estatal De Milagro y tutor académico del trabajo de titulación "EFECTO DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN LA CHICHA DE JORA FERMENTADA PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE MALEZAS EN SISTEMAS AGRÍCOLAS SOSTENIBLES". Se autoriza a Yumbay Cacuango Yauri Andrés, con CI. 0250297199, estudiante del Programa de Maestría en Biotecnología de la Universidad Estatal de Milagro, para llevar a cabo la fase experimental del trabajo de titulación mencionado, desde el **10 de junio de 2025 al 13 de junio de 2025**, conforme al Art. 7 del Reglamento de uso de laboratorios.

Se deja constancia de que tanto el tutor académico como los estudiantes serán responsables de todas las actividades realizadas dentro del laboratorio, así como de sus consecuencias. Adicionalmente, se requerirá la presentación de informes periódicos para el seguimiento y evaluación de las actividades autorizadas, cabe indicar que la presente autorización se suscribe de acuerdo al convenio interinstitucional del 31 de marzo de 2022.

Atentamente,



Ing. Isidro Favián Bayas Morejón, Ph. D.  
DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN  
UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Dirección: Av. Ernesto Che Guevara y Gabriel Secaira  
Guaranda-Ecuador  
Teléfono: (593) 3220 6059  
[www.ueb.edu.ec](http://www.ueb.edu.ec)

JGO

### Anexo 3.

### Resultados del análisis

 <b>VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b>	<b>LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b>	<b>Código</b>	<b>BBM20250</b>
		<b>Versión</b>	<b>1</b>
	<b>INFORME DE RESULTADOS DE TESIS</b>	<b>Año</b>	<b>2025</b>
		<b>Página</b>	<b>1 de 2</b>

Guaranda, 13 de junio del 2025

Descripción de la muestra	
<b>Solicitantes</b>	Yauri Andrés Yumbay Cacuango
<b>Muestras</b>	Chicha de jora
<b>Código asignado UEB</b>	INV 180
<b>Estado de la muestra</b>	Líquida
<b>Envase de recepción</b>	Frascos estériles
<b>Análisis requerido(s)</b>	Identificación de microorganismos presente en la Chicha de jora
<b>Fecha de recepción</b>	9 de junio del 2025
<b>Fecha de análisis</b>	13 de junio del 2025
<b>Fecha de informe</b>	13 de junio del 2025
<b>Técnico asignado</b>	SXSJ

#### Resultados del análisis

Medio de Cultivo Utilizado	Observaciones Macroscópicas de Colonias	Tinción de Gram (Microscopía)	Microorganismos Presumibles Encontrados
Nutri Agar	Crecimiento diverso de colonias (blancas, cremosas, opacas, translúcidas)	<b>Bacterias Gram positivas</b> (bacilos)	<i>Lactobacillus</i> spp., entre otros.
Agar MRS (Man Rogosa Sharpe)	Colonias pequeñas, blanquecinas, a menudo cremosas.	<b>Bacterias Gram positivas</b> (bacilos)	<i>Lactobacillus</i> spp.
Agar Dextrosa Sabouraud	Colonias grandes, lisas, de color blanco a crema, con olor a levadura.	<b>Levaduras</b> (células ovaladas, a menudo con gemación) <b>Bacterias Gram negativas</b> (bacilos)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Acetobacter</i> spp

  
Elaborado

Ing. Santiago Santos Jara, MSc.

  
Revisado



Ing. Favian Bayas Morejón, Ph.D.