

## Evaluación de actinomicetos rizosféricos como bioestimulantes en plántulas de cacao (*Theobroma cacao*)

### Evaluation of rhizospheric actinomycetes as biostimulant in cocoa (*Theobroma cacao*) seedlings

### Avaliação de actinomicetos rizosféricos como bioestimulantes em plântulas de cacau (*Theobroma cacao*)

Abasolo-Pacheco, Fernando  
Universidad Técnica Estatal de Quevedo  
[fabasolo@uteq.edu.ec](mailto:fabasolo@uteq.edu.ec)  
<https://orcid.org/0000-0003-2268-7432>



Castillo-Quijije, Danna  
Universidad Técnica Estatal de Quevedo  
[dcastilloq@uteq.edu.ec](mailto:dcastilloq@uteq.edu.ec)  
<https://orcid.org/0000-0002-3172-6504>



García-Gallirgos, Víctor Jorge  
Universidad Técnica Estatal de Quevedo  
[victor.garcia2016@uteq.edu.ec](mailto:victor.garcia2016@uteq.edu.ec)  
<https://orcid.org/0000-0003-4547-6187>



Tigrero-Zapata, Gabriela  
Instituto Superior Tecnológico Babahoyo  
[gtigrero@istb.edu.ec](mailto:gtigrero@istb.edu.ec)  
<https://orcid.org/0000-0001-7621-9867>



Romero-Meza, Ricardo  
Investigador Independiente  
[ricarhapo@hotmail.com](mailto:ricarhapo@hotmail.com)  
<https://orcid.org/0000-0002-3915-3309>



DOI / URL: <https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v6/nE2/1059>

#### Como citar:

Abasolo-Pacheco, F., Castillo-Quijije, D., García-Gallirgos, V. J., Tigrero-Zapata, G., & Romero-Meza, R. (2025). Evaluación de actinomicetos rizosféricos como bioestimulantes en plántulas de cacao (*Theobroma cacao*). *Código Científico Revista De Investigación*, 6(E2), 1007–1029.

**Recibido:** 27/09/2025

**Aceptado:** 28/09/2025

**Publicado:** 30/09/2025

## Resumen

La investigación tuvo como objetivo evaluar el potencial de actinomicetos rizosféricos como bioestimulantes en plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN-51. El estudio se desarrolló en el laboratorio de Microbiología del Campus Experimental “La María” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, bajo un diseño completamente al azar con seis tratamientos y tres repeticiones. Se aislaron cinco cepas de actinomicetos (GC2, GC3, GC4, BA y EM) a partir de muestras rizosféricas de cacao y se compararon con un control sin inoculación. Las cepas presentaron diversidad morfológica y bioquímica, evidenciando variaciones en textura, pigmentación y pruebas funcionales. Entre los tratamientos, la cepa GC4 destacó al alcanzar un 100 % de germinación y un 90 % de emergencia de plántulas, mientras que la cepa EM promovió un desarrollo superior en altura (28,37 cm), diámetro de hipocótilo (0,46 mm), longitud radicular (25,22 cm) y biomasa fresca y seca (1,76 y 0,26 g, respectivamente). Estos resultados demuestran que los actinomicetos rizosféricos, en particular las cepas GC4 y EM, poseen un efecto positivo en la germinación y crecimiento inicial del cacao, constituyéndose en alternativas prometedoras para el desarrollo de bioestimulantes en sistemas de producción sostenibles.

**Palabras clave:** actinobacterias, biotecnología, rizobacterias, biofertilizantes.

## Abstract

The objective of the research was to evaluate the potential of rhizospheric actinomycetes as biostimulants in seedlings of the CCN-51 variety of cacao (*Theobroma cacao* L.). The study was conducted in the Microbiology Laboratory of the La María Experimental Campus of the Technical State University of Quevedo, Ecuador, using a completely randomized design with six treatments and three replicates. Five strains of actinomycetes (GC2, GC3, GC4, BA, and EM) were isolated from rhizospheric samples of cacao and compared with a control without inoculation. The strains showed morphological and biochemical diversity, with variations in texture, pigmentation, and functional tests. Among the treatments, strain GC4 stood out, achieving 100% germination and 90% seedling emergence, while strain EM promoted superior development in height (28.37 cm), hypocotyl diameter (0.46 mm), root length (25.22 cm), and fresh and dry biomass (1.76 and 0.26 g, respectively). These results demonstrate that rhizosphere actinomycetes, particularly strains GC4 and EM, have a positive effect on the germination and initial growth of cocoa, making them promising alternatives for the development of biostimulants in sustainable production systems.

**Keywords:** actinomycetes, biotechnology, rhizobacteria, biofertilizers.

## Resumo

A investigação teve como objetivo avaliar o potencial dos actinomicetos rizosféricos como bioestimulantes em plântulas de cacau (*Theobroma cacao* L.) da variedade CCN-51. O estudo foi realizado no laboratório de Microbiologia do Campus Experimental «La María» da Universidade Técnica Estatal de Quevedo, Equador, sob um desenho completamente aleatório com seis tratamentos e três repetições. Cinco estirpes de actinomicetos (GC2, GC3, GC4, BA e EM) foram isoladas a partir de amostras rizosféricas de cacau e comparadas com um controlo sem inoculação. As estirpes apresentaram diversidade morfológica e bioquímica, evidenciando variações na textura, pigmentação e testes funcionais. Entre os tratamentos, a estirpe GC4 destacou-se ao atingir 100 % de germinação e 90 % de emergência de plântulas, enquanto a estirpe EM promoveu um desenvolvimento superior em altura (28,37 cm), diâmetro do hipocótilo (0,46 mm), comprimento radicular (25,22 cm) e biomassa fresca e seca (1,76 e 0,26 g, respetivamente). Estes resultados demonstram que os actinomicetos rizosféricos, em

particular as estirpes GC4 e EM, têm um efeito positivo na germinação e no crescimento inicial do cacau, constituindo alternativas promissoras para o desenvolvimento de bioestimulantes em sistemas de produção sustentáveis.

**Palavras-chave:** actinomicetos, biotecnologia, rizobactérias, biofertilizantes.

## Introducción

La producción de cacao *Theobroma cacao*, es un pilar fundamental para las economías de muchos países tropicales, siendo uno de los principales cultivos comerciales a nivel mundial. A pesar de su importancia económica, el sector enfrenta numerosos desafíos que afectan su sostenibilidad y rentabilidad. A nivel global, los productores de cacao luchan contra plagas y enfermedades que reducen significativamente los rendimientos y la calidad de las cosechas. En particular, el cacao es vulnerable a enfermedades como la monilia, la podredumbre negra y el virus del mosaico (Marelli et al., 2019), así como a plagas como las moscas de la fruta y las hormigas cortadoras (Ramos et al., 2024). Estos problemas se agravan por prácticas de manejo inadecuadas y variaciones climáticas, que amplifican las dificultades en la producción (Ceccarelli et al., 2024).

Ecuador, uno de los mayores productores de cacao en el mundo, enfrenta una situación igualmente crítica. El país afronta desafíos significativos, incluyendo la alta incidencia de enfermedades como la monilia y la podredumbre negra, que afectan gravemente la calidad y cantidad de la producción de cacao. Las condiciones climáticas variables como el fenómeno El Niño y el cambio climático, exacerbaban los problemas provocando sequías o lluvias excesivas que afectan el crecimiento de las plantas y la productividad (Allen et al., 2024). Además, el manejo inadecuado de los cultivos y la falta de acceso a tecnologías de control eficientes contribuyen a la pérdida de rendimiento (Blare y Useche, 2013; Useche y Blare, 2013; Allen et al., 2024). En conjunto, estos factores generan una presión económica considerable sobre los agricultores ecuatorianos (Tinoco-Jaramillo et al., 2024).

Para mitigar estos problemas, se están explorando nuevas estrategias, entre las que destacan el uso de bioestimulantes y microorganismos beneficiosos. Estos microorganismos provienen de la comunidad biológica donde se desarrollan los cultivos, particularmente de la rizosfera y pueden acelerar el desarrollo de las plantas a través de reguladores de crecimiento vegetal (Higa y Parr, 2014). Además, pueden estimular la formación de raíces, fortalecer los mecanismos naturales de defensa de la planta a enfermedades e insectos patógenos e incrementar la respuesta a la biofertilización (Izhar et al., 2024). Martínez *et al.* (2011) favorecen el empleo de microorganismos como mejoradores de los sustratos utilizados en condiciones de vivero, lo cuales son reconocidos por su gran efecto como promotores del desarrollo radical en las plántulas de cacao y por su contribución al incremento de absorción de nutrientes.

Los actinomicetos rizosféricos, en particular, han demostrado potencial como bioestimulantes en diversos cultivos, mejorando la salud de las plantas y su resistencia a enfermedades (Diab et al., 2024). Están considerados como organismos promotores del crecimiento vegetal (OPCV), debido a que median una serie de mecanismos favorables para las plantas que pueden ser directos o indirectos, tales como la fijación biológica de nitrógeno, la solubilización de iones fosfato, la producción de quelantes de hierro (sideróforos), de fitohormonas y antibióticos, entre otros (Ghorbani-Nasrabad et al., 2013; de Souza Rodriguez et al., 2024). Si el uso de este tipo de OPCV es viable y sostenible, sería importante evaluar este tipo de alternativa en vistas de aumentar la producción, beneficiando al cultivo de cacao y la economía del país.

De acuerdo con lo anterior, esta investigación se enfoca en evaluar el impacto de estas bacterias en las plántulas de cacao, a través de la selección de un grupo de actinomicetos dentro de los aislados de la rizosfera de cultivos de cacao. Se anticipa que los actinomicetos, junto con sus metabolitos secundarios, actúen como bioestimulantes en plántulas de cacao, con el

objetivo de proporcionar soluciones prácticas y sostenibles que incrementen la productividad y minimicen las pérdidas en la producción. De esta forma, se proporcionarían herramientas innovadoras que puedan ser adoptadas por los productores para enfrentar los desafíos actuales y futuros del cultivo de cacao.

## Metodología

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Microbiología del Campus Experimental “La María” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicado en el km 7½ de la vía Quevedo–El Empalme, cantón Mocache, Ecuador (79°29’ longitud O y 01°06’ latitud S; 75 m s. n. m.), caracterizado por clima tropical húmedo, temperatura media anual de 25,3 °C, precipitación de 2256,4 mm, humedad relativa de 82 % y 840,9 h luz año. El estudio se condujo bajo un diseño completamente al azar con seis tratamientos y tres repeticiones, consistentes en cinco cepas de actinomicetos (T1: GC2, T2: GC3, T3: GC4, T4: BA y T5: EM) aisladas de rizósfera de cacao, más un control sin inoculación (T6). Los datos obtenidos fueron analizados mediante ANOVA, y las diferencias entre medias se determinaron con la prueba de Duncan, utilizando el software InfoStat versión 2020 (Balzarini et al., 2020).

Para el aislamiento, se colectaron 20 g de suelo rizosférico en cultivos de cacao, transportados en bolsas estériles hasta el laboratorio. A partir de 1 g de suelo seco se realizó una suspensión inicial en 9 mL de agua estéril ( $10^{-1}$ ), incubada 20 min en baño María a 60 °C. Se efectuaron diluciones seriadas ( $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ ) en solución salina al 0,85 % y se sembraron 20  $\mu$ L en agar ISP-2 (Shirling & Gottlieb, 2013), suplementado con antifúngicos y antibióticos (fosfomicina 25  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>, itraconazol 25  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>, nistatina 50  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>) para inhibir contaminantes (León et al., 2015). Las placas se incubaron a 28 °C durante 7–15 días en posición invertida. Las colonias se caracterizaron morfológicamente por textura, color del

micelio aéreo y del sustrato, pigmentos difusibles, producción de esporas y aspecto macroscópico y microscópico típico de actinomicetos (Salazar et al., 2014).

La caracterización bioquímica incluyó tinción de Gram, prueba de catalasa y solubilización de fosfato en medio MPVK suplementado con  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  y púrpura de bromocresol como indicador (Cisneros & Sánchez, 2015). Las cepas se conservaron en ISP-2 con glicerol al 20 % a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  (Pérez & Sosa, 2010; Perry, 2013). Para su reactivación, se cultivaron en ISP-2 sólido y posteriormente en ISP-2 líquido bajo agitación constante (150 rpm) a  $28\text{ }^\circ\text{C}$  durante 15 días (Bergey et al., 2013). Los metabolitos secundarios libres de células se obtuvieron mediante centrifugación (4000 rpm, 20 min), ciclos de choque térmico y almacenamiento del sobrenadante a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ .

En la fase de bioensayos se emplearon 270 semillas de cacao CCN-51, escarificadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0,1 %. Las semillas se inocularon por inmersión en suspensiones de actinomicetos ajustadas a  $10^8\text{ UFC mL}^{-1}$  durante 30 min bajo agitación. Para el ensayo de germinación en laboratorio se dispusieron 180 semillas en papel estéril humedecido, mantenidas en condiciones oscuras y húmedas, registrando diariamente la emergencia de radículas durante 10 días. En el ensayo de emergencia en maceta se sembraron 90 semillas inoculadas en un sustrato esterilizado compuesto por suelo, turba y vermiculita (1:1:0,5), instaladas en vasos de 34 onzas bajo umbráculo por 45 días, con riego periódico de agua estéril. Adicionalmente, se realizaron aplicaciones edáficas de las suspensiones microbianas ( $10^6\text{ UFC mL}^{-1}$ ) al cuello de las plántulas a los 15 y 30 días.

Las variables registradas incluyeron porcentaje de germinación, porcentaje de emergencia, altura de planta, diámetro del hipocótilo, número de hojas, longitud radicular, peso foliar y radicular fresco y seco, y contenido de clorofila (SPAD) medido con el equipo MC-100 (Apogee Instruments, USA) a los 45 días (Reyes et al., 2017). Los parámetros cuantitativos se midieron con flexómetro, calibrador Vernier y balanzas analíticas de precisión.

## Resultados

### Caracterización morfológica de actinomicetos rizosféricos

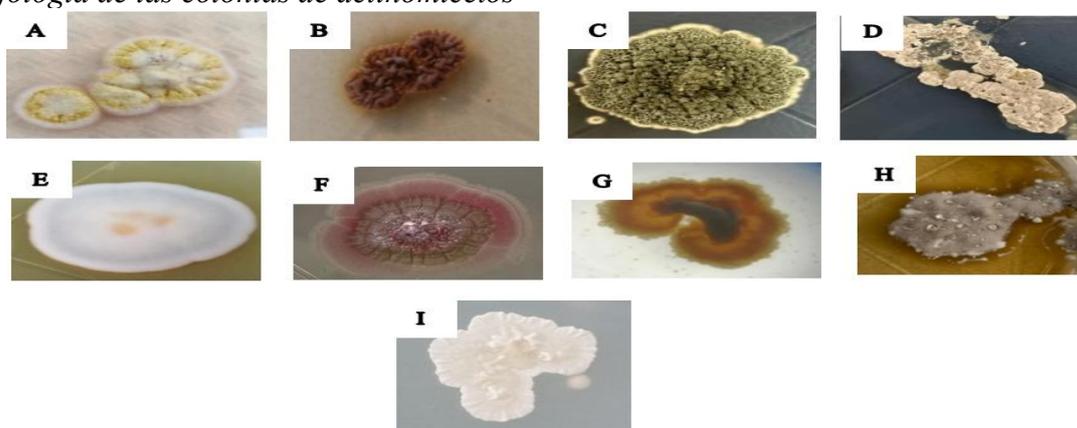
Se obtuvieron 26 aislados en el medio de cultivo ISP2, de los cuales nueve fueron recuperados y caracterizados. Las cepas que presentaron rasgos macroscópicos típicos de actinomicetos, como colonias secas, pulverulentas y con olor a suelo asociado a la producción de geosmina, fueron purificadas y posteriormente examinadas a nivel microscópico, observándose hifas en espiral y formación de esporas (Tabla 1; Figura 1).

**Tabla 1**  
*Caracterización morfológica de actinomicetos*

Código cepa	Textura	Pigmentación de la colonia
		Micelio aéreo
BA	Amarillo y blanco	Polvosa presencia de geosminas
EM	Café	Rugosa
EM2	Verde oscuro	Polvosa presencia de geosminas
EM3	Gris	Seca, granular
GC1	Blanca	Algodonosa, con geosminas
GC2	Roja	Seca, filamentosa
GC3	Crema	Seca, rugosa
GC4	Gris	Algodonosa, con geosminas
GG	Blanca	Seca, polvosa

*Nota:* (Autores, 2025).

**Figura 1**  
*Morfología de las colonias de actinomicetos*



*Nota:* (A) cepa BA, (B) cepa EM, (C) cepa EM2, (D) cepa EM3, (E) cepa GC1, (F) cepa GC2, (G) cepa GC3, (H) cepa GC4, (I) cepa GG (Autores, 2025).

### Caracterización bioquímica de actinomicetos rizosféricos.

Las pruebas bioquímicas evidenciaron la capacidad de las cepas para producir catalasa y solubilizar fósforo, destacándose GC4 y EM por su elevada actividad enzimática y

metabólica. La tinción de Gram confirmó la presencia de bacilos ramificados con reacción Gram positiva, resultado coherente con las características propias del grupo de los actinomicetos (Tabla 2).

**Tabla 2**  
*Clasificación de pruebas bioquímicas.*

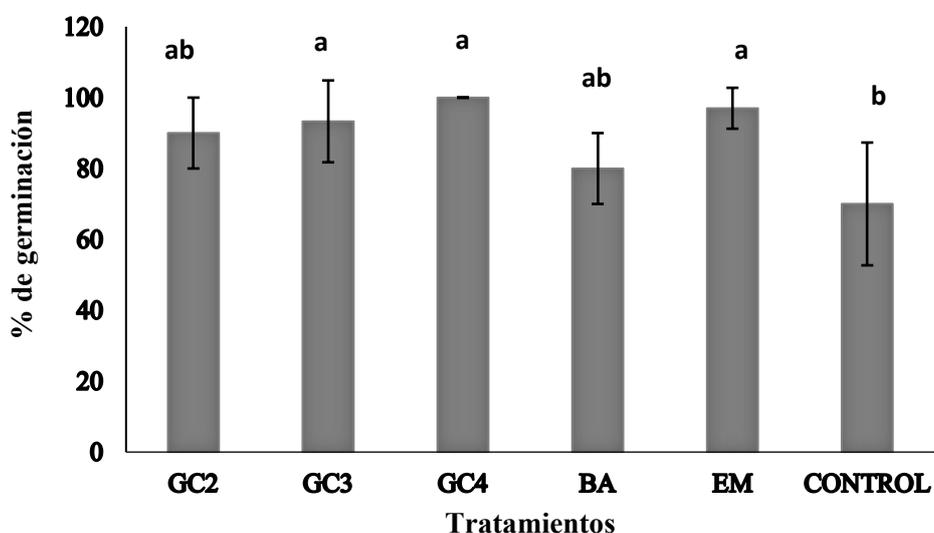
Cepas	Tinción Gram	Catalasa	Solubilización Fósforo
BA	+	+	++
EM	+	+	+++
EM2	+	+	+
EM3	+	+	-
GC1	+	+	+
GC2	+	+	+
GC3	+	+	++
GC4	+	+	+++
GG	+	+	-

*Nota:* +: Producción normal, ++ producción moderada, +++ producción alta (Autores, 2025).

**Porcentaje de germinación de semillas de cacao.**

El porcentaje de germinación en semillas de cacao mostró valores superiores en los tratamientos inoculados con actinomicetos, destacándose GC4 con 100 %, EM con 91 % y GC2 con 90 %, todos significativamente mayores en comparación con el tratamiento sin inoculación bacteriana (80 %) y el control absoluto (70 %). El análisis presentó un coeficiente de variación de 12,91 % (Figura 2).

**Figura 2**  
*Porcentaje de germinación de semillas de cacao inoculadas con actinomicetos.*



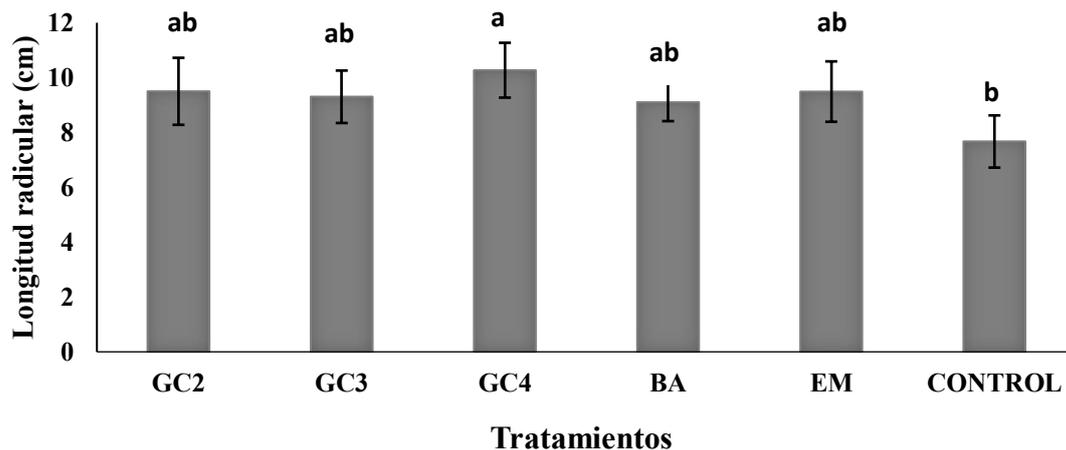
*Nota:* Las barras de error indican ± Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a p<0.05 (test de Duncan) (Autores, 2025).

### Longitud radicular de semillas de cacao

El efecto de las cepas de actinomicetos sobre la longitud radicular de las plántulas de cacao fue superior en los tratamientos GC4 (10,27 cm), EM (9,49 cm) y GC2 (9,00 cm). En contraste, el tratamiento sin inoculación bacteriana y el control registraron longitudes menores, con promedios de 9,30 y 7,67 cm, respectivamente. El análisis arrojó un coeficiente de variación de 10,84 % (Figura 3).

#### Figura 3

*Longitud radicular en semillas de cacao germinadas e inoculadas con actinomicetos.*



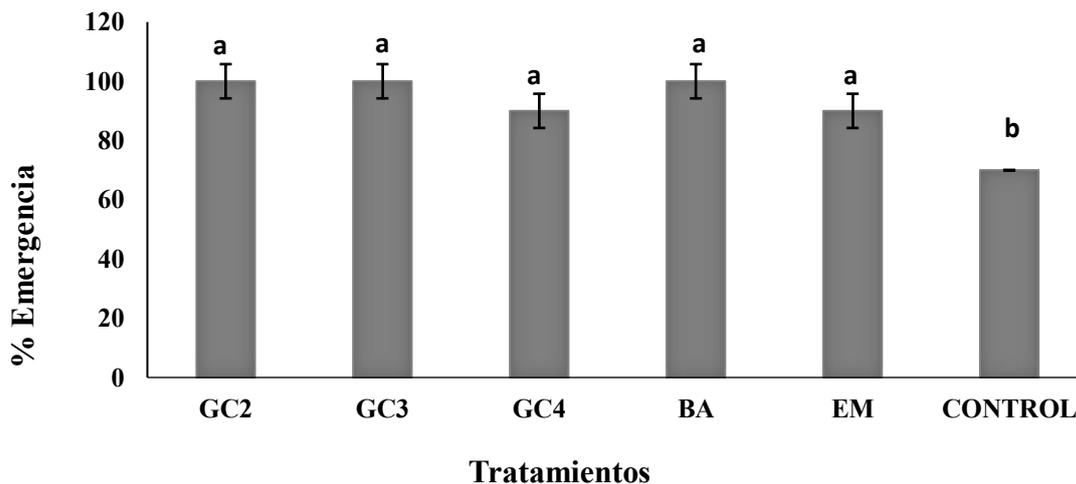
*Nota:* Las barras de error indican  $\pm$ Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (test de Duncan) (Autores, 2025).

### Porcentaje de emergencia en plántulas de cacao

El porcentaje de emergencia, evaluado a los siete días después de la siembra, alcanzó el 100 % en los tratamientos inoculados con las cepas GC2, GC3 y GC4. Estos valores fueron significativamente superiores en comparación con el tratamiento sin inoculación bacteriana (80 %) y el control absoluto (70 %). El coeficiente de variación del análisis fue de 5,75 % (Figura 4).

**Figura 4**

*Porcentaje de emergencia en plántulas de cacao inoculadas con actinomicetos*



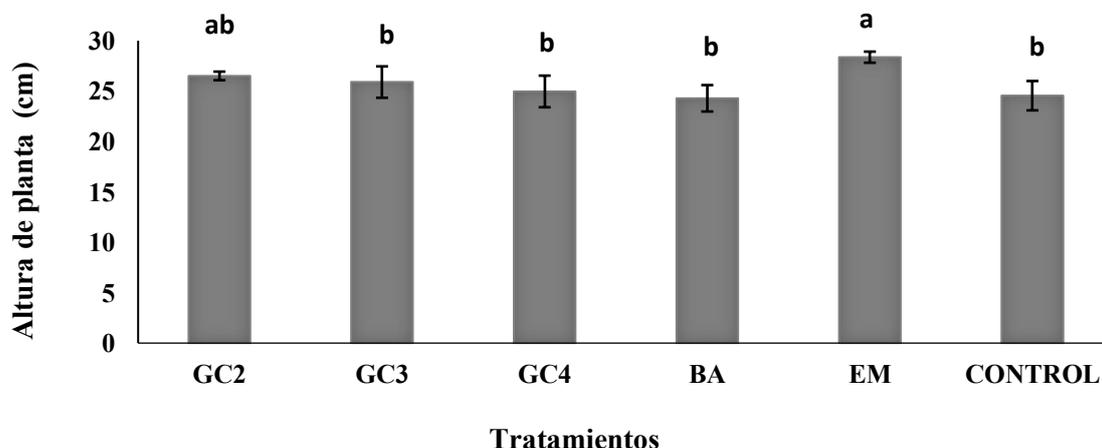
*Nota:* Las barras de error indican  $\pm$ Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (test de Duncan) (Autores, 2025).

**Altura de planta**

El crecimiento en altura de las plántulas de cacao estuvo positivamente influenciado por la inoculación con actinomicetos, lo que favoreció una mejor asimilación de nutrientes. El mayor valor se obtuvo en el tratamiento EM, con un promedio de 28,37 cm, significativamente superior en comparación con el tratamiento sin inoculación bacteriana y el control, cuyos valores no superaron los 25,9 cm. El análisis presentó un coeficiente de variación de 4,81 % (Figura 6).

**Figura 5**

*Altura de plántulas inoculadas con actinomicetos*



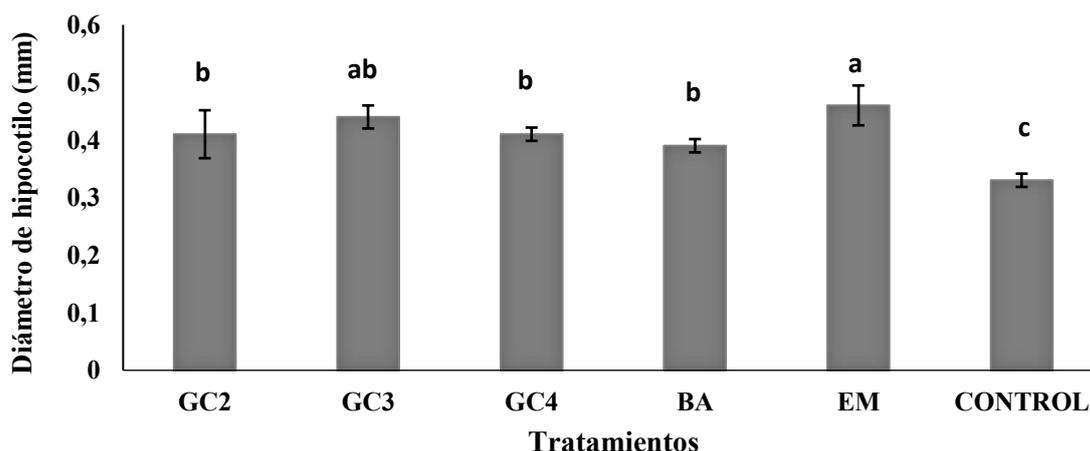
*Nota:* Las barras de error indican  $\pm$  Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (test de Duncan) (Autores, 2025).

### Diámetro de hipocótilo.

La aplicación de actinomicetos en plántulas de cacao generó un incremento en el diámetro del hipocótilo. El mayor valor se registró en el tratamiento EM, con un promedio de 0,46 mm, significativamente superior en comparación con los tratamientos sin inoculación bacteriana y el control, cuyos valores oscilaron entre 0,44 y 0,33 mm. El coeficiente de variación del análisis fue de 6,15 % (Figura 7).

#### Figura 7

*Diámetro del tallo inoculados con actinomicetos seleccionado*



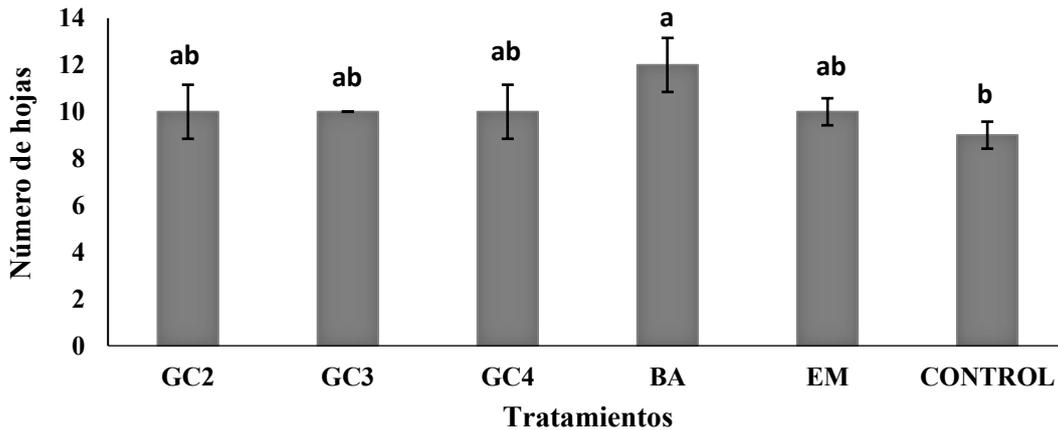
*Nota:* Las barras de error indican  $\pm$ Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (test de Duncan) (Autores, 2025).

### Número de hojas

La aplicación de actinomicetos influyó positivamente en el número de hojas de las plántulas de cacao, evidenciando un incremento en la emisión foliar. Se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos, destacándose BA con un promedio de 12 hojas, mientras que GC2, GC3, GC4 y EM registraron valores de 10 hojas, superiores al control. El análisis reportó un coeficiente de variación de 8,67 % (Figura 8).

**Figura 8**

*Número de hojas en respuesta a la aplicación de los actinomicetos*



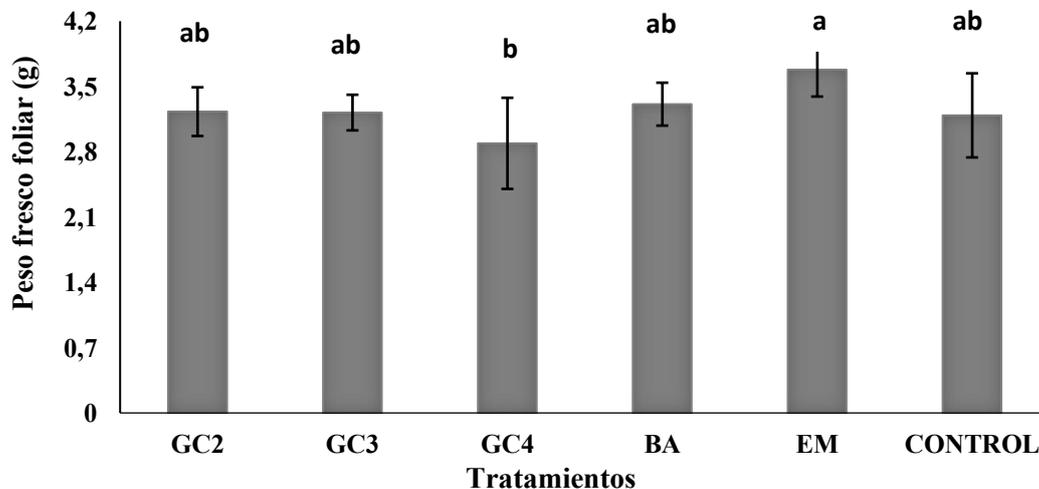
*Nota:* Las barras de error indican  $\pm$ Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (test de Duncan) (Autores, 2025).

**Peso fresco foliar**

Los actinomicetos, considerados rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), influyeron significativamente en el vigor de las plántulas de cacao, reflejado en el incremento del peso foliar en comparación con el control. El tratamiento EM presentó el mayor valor promedio con 1,76 g, seguido por GC2, GC3, GC4 y BA, que registraron promedios entre 1,75 y 1,67 g, mientras que el control alcanzó únicamente 1,39 g. El coeficiente de variación del análisis fue de 10,37 % (Figura 9).

**Figura 9**

*Peso fresco foliar bajo el efecto de inoculación de actinomicetos*



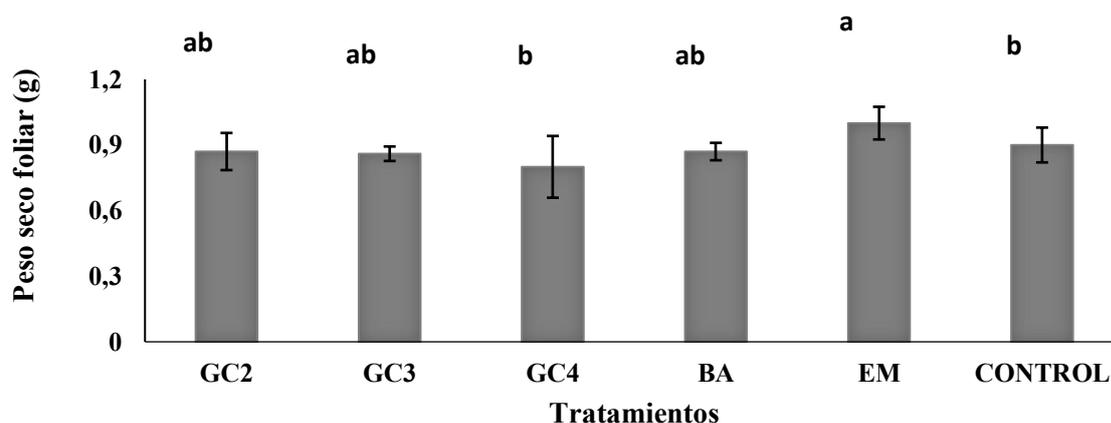
*Nota:* Las barras de error indican  $\pm$  Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (test de Duncan) (Autores, 2025).

### Peso seco foliar

El peso seco de las hojas de plántulas de cacao fue mayor en el tratamiento EM, con un promedio de 0,26 g, mostrando diferencias estadísticas significativas frente a los demás tratamientos. GC2, GC3, GC4 y BA presentaron valores entre 0,25 y 0,21 g, mientras que el control alcanzó 0,24 g. El análisis registró un coeficiente de variación de 9,44 % (Figura 10).

#### Figura 10

*Peso seco foliar bajo el efecto de inoculación de actinomicetos*



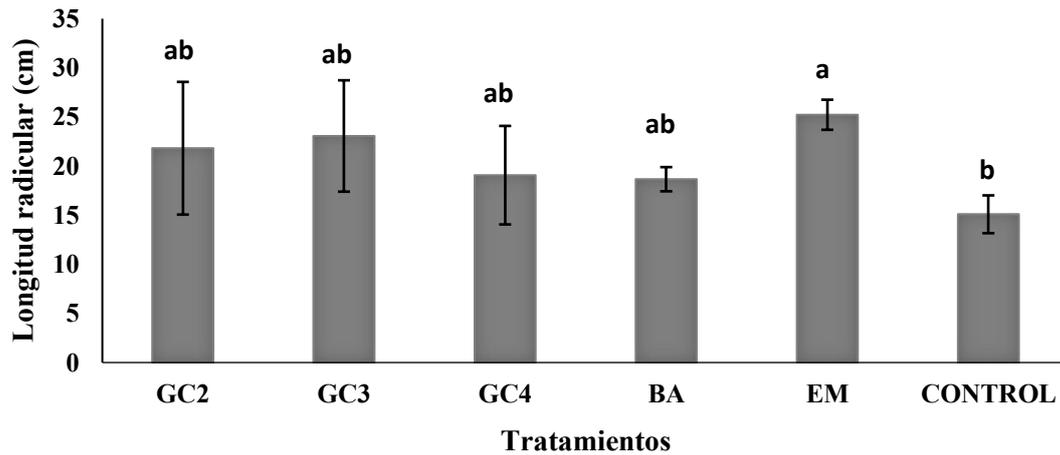
*Nota:* Las barras de error indican  $\pm$  Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (test de Duncan) (Autores, 2025).

### Longitud radicular

La longitud radicular de las plántulas de cacao fue mayor en los tratamientos inoculados con actinomicetos, destacándose EM con 25,22 cm, seguido por GC3 con 23,06 cm y GC2 con 21,81 cm. En contraste, el tratamiento sin inoculación bacteriana y el control registraron valores inferiores, con promedios de 19,07 y 15,09 cm, respectivamente, mostrando diferencias estadísticas significativas. El coeficiente de variación del análisis fue de 20,94 % (Figura 11).

**Figura 11**

*Longitud radicular en plántulas de cacao inoculadas con actinomicetos.*



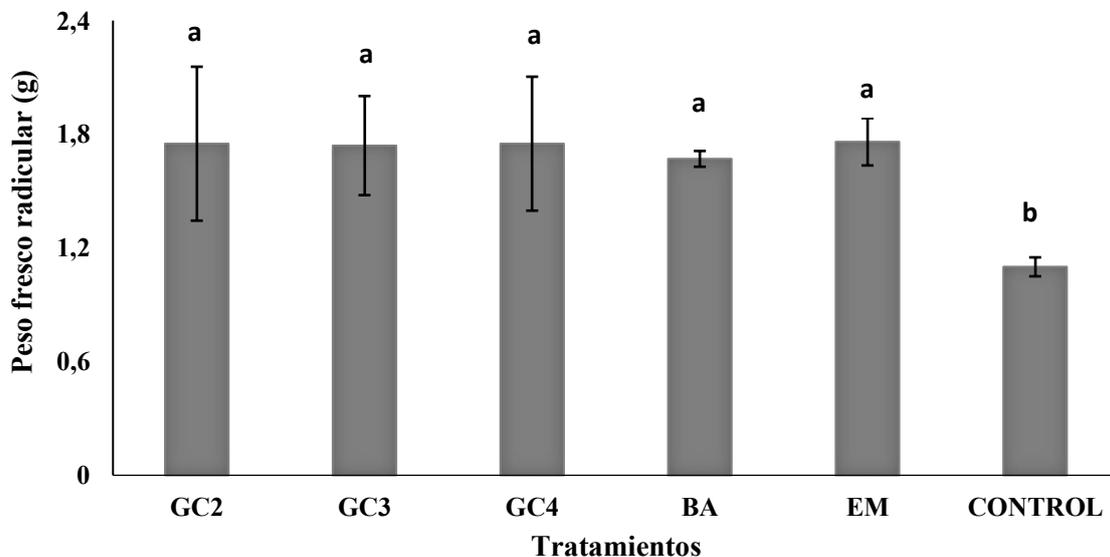
*Nota:* Las barras de error indican  $\pm$  Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (test de Duncan) (Autores, 2025).

**Peso fresco radicular**

El peso fresco de las raíces de las plántulas de cacao fue mayor en el tratamiento EM, con un promedio de 1,76 g, mostrando diferencias estadísticas significativas frente a los demás tratamientos. GC2, GC3, GC4 y BA registraron valores entre 1,50 y 1,67 g, mientras que el control alcanzó únicamente 1,10 g. El análisis presentó un coeficiente de variación de 15,42 % (Figura 12).

**Figura 12**

*Peso fresco radicular bajo el efecto de inoculación de actinomicetos*



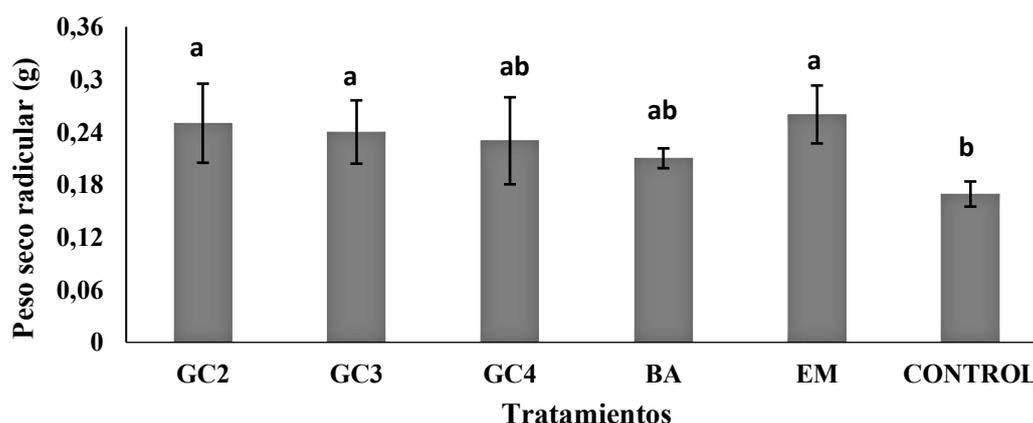
*Nota:* Las barras de error indican  $\pm$  Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (test de Duncan) (Autores, 2025).

### Peso seco radicular

El mayor peso seco de las raíces de las plántulas de cacao se obtuvo en el tratamiento EM, con un promedio de 0,26 g, mostrando diferencias estadísticas significativas respecto a los demás tratamientos. Las cepas GC2, GC3, GC4 y BA registraron valores entre 0,25 y 0,21 g, mientras que el control alcanzó únicamente 0,07 g. El coeficiente de variación del análisis fue de 15,39 % (Figura 13).

#### Figura 13

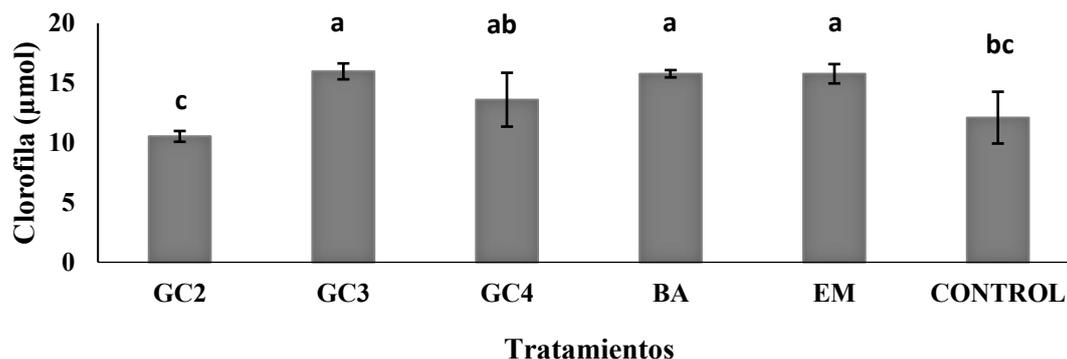
*Peso seco radicular bajo el efecto de inoculación de actinomicetos*



*Nota:* Las barras de error indican  $\pm$  Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (test de Duncan) (Autores, 2025).

### Clorofila

Las concentraciones más altas de clorofila se registraron en el tratamiento GC3, con un promedio de 15,97  $\mu\text{mol}$ , valor significativamente superior respecto a los demás tratamientos. GC4, BA, EM y el control presentaron valores intermedios, entre 15,77 y 12,10  $\mu\text{mol}$ , mientras que GC2 mostró el nivel más bajo con 10,53  $\mu\text{mol}$ . El coeficiente de variación del análisis fue de 9,77 % (Figura 14).

**Figura 14***Fluorescencia de clorofila bajo el efecto de los actinomicetos*

*Nota:* Las barras de error indican  $\pm$  Desviación Estándar; diferentes letras indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (test de Duncan) (Autores, 2025).

## Discusión

La evaluación de actinomicetos rizosféricos como bioestimulantes en plántulas de cacao evidenció resultados de alto interés para la actividad cacaotera. Se determinó que cerca del 60 % de las cepas aisladas provenían de la provincia del Guayas, específicamente del cantón El Empalme, una zona con tradición en el cultivo de cacao. Esta abundancia podría estar vinculada con la acumulación de residuos fibrosos en la región, lo que, de acuerdo con Rivas-Nichorzon et al. (2017) y Andrade y Avellán (2020), favorece la proliferación de microorganismos benéficos gracias a la alta concentración de materia orgánica en descomposición. Ello refuerza lo señalado por Cardona, Peña y Ruíz (2009) y Duché-García et al. (2021), quienes asocian la disponibilidad de materia orgánica con la abundancia de actinomicetos, sugiriendo un entorno favorable para su desarrollo y potencial aplicación agrícola. En este sentido, Paco y Guzmán (2019) y Ramírez, Florida y Escobar (2019) destacan que estos residuos no solo enriquecen el suelo, sino que también propician el establecimiento de microorganismos que pueden mejorar la germinación y crecimiento de plántulas.

Los resultados de caracterización morfológica y bioquímica concuerdan con lo descrito por Araújo (2012), quien identificó colonias de *Streptomyces* con morfologías secas y polvosas, y por Jassim (2022), quien agrupó aislamientos fenotípicamente similares a este género con

base en pruebas macroscópicas, bioquímicas y fisiológicas. La cepa EM presentó pigmentación café oscuro y textura rugosa (Caro-Castro, 2016), rasgos que podrían reflejar adaptaciones al ambiente rizosférico (Cisneros-Moscol, 2016), además de su capacidad para solubilizar fósforo, lo cual es fundamental en la nutrición de plántulas de cacao (Quispe & Salas, 2022). Como señalan Naik et al. (2019), esta propiedad es especialmente relevante en suelos agrícolas donde el fósforo es un nutriente limitante. Por otra parte, la cepa GC4, aunque menos destacada en solubilización, mostró un efecto sobresaliente en la germinación, reflejando la diversidad funcional descrita por Tanya-Morocho y Leiva-Mora (2019).

En el presente estudio, la cepa GC4 alcanzó un 100 % de germinación y un 90 % de emergencia, frente al 70 % del control, lo que respalda su papel bioestimulante en etapas iniciales del cultivo. Este efecto coincide con lo reportado por Miquinga-Tucres (2022), quien evidenció el impacto positivo de actinomicetos sobre la emergencia de plántulas de cacao. Tales resultados pueden explicarse por la capacidad de estas cepas para activar procesos fisiológicos relacionados con la absorción de nutrientes y agua (Sharma, Dangi, & Choudhary, 2014), así como por la posible simbiosis rizosférica descrita por Yáñez-Ocampo et al. (2020).

En cuanto al crecimiento vegetativo, la cepa EM mostró incrementos significativos en altura y diámetro del hipocótilo, atributos directamente asociados con la fortaleza y estabilidad de las plántulas. Zhang et al. (2019) y Porra et al. (2020) destacan que estos parámetros son indicadores de un establecimiento exitoso en campo. Este efecto podría estar mediado por la activación enzimática y la mejora en la absorción de nutrientes esenciales (Ceiro-Catasú et al., 2023), incluyendo enzimas asociadas a la síntesis de paredes celulares y expansión de tejidos (Caro-Castro et al., 2019). Asimismo, la cepa EM favoreció la expansión radicular, aumentando tanto la longitud como la biomasa de raíces, lo cual concuerda con los hallazgos de Ngamcharungchit et al. (2023), quienes subrayan la importancia de la interacción rizobacteria-raíz en la absorción hídrica y nutricional.

No obstante, se evidenció que la cepa GC4 presentó menor peso foliar respecto al control, lo que sugiere un posible efecto negativo en la acumulación de biomasa aérea. Este resultado coincide con la idea de que las interacciones específicas entre microorganismos y plántulas pueden influir de forma diferencial en los componentes morfológicos, tal como lo reportaron Zhang, Kang y Che (2019). En contraste, el resto de cepas, especialmente BA, promovieron una mayor emisión foliar, efecto también documentado por Miquinga-Tucres (2022) en cacao.

En el ámbito fisiológico, la cepa GC3 registró las mayores concentraciones de clorofila, indicador clave de la eficiencia fotosintética. Yáñez, Silvestre y Chamorro (2023) señalan que un aumento en clorofila está directamente asociado con una mayor captación de energía lumínica, lo que refuerza la relevancia de estos resultados. Además, la capacidad de los actinomicetos para modular la producción de metabolitos y favorecer la absorción de nutrientes, como proponen García-Bernal et al. (2022), podría explicar el incremento observado. Las implicaciones de este hallazgo son relevantes, pues una mayor eficiencia fotosintética puede traducirse en incrementos sostenibles de productividad y calidad del cacao, en concordancia con lo sugerido por Mohapatra et al. (2015).

Los resultados confirman que los actinomicetos, particularmente las cepas EM y GC4, poseen un potencial significativo como bioestimulantes en cacao, favoreciendo tanto la germinación como el desarrollo morfofisiológico de las plántulas. Estos hallazgos se alinean con lo planteado por Khamna et al. (2010), quienes resaltan la capacidad de géneros como *Streptomyces*, *Micrococcus*, *Micromonospora* y *Thermobifida* para promover el crecimiento vegetal mediante la solubilización de nutrientes y la producción de compuestos bioactivos. Sin embargo, es necesario validar estos resultados bajo condiciones de campo y en diferentes etapas fenológicas del cultivo, lo que permitirá consolidar la aplicación de actinomicetos

rizosféricos como herramientas biotecnológicas en sistemas de producción sostenibles de cacao.

## Conclusión

Existió una diversidad notable en cuanto a las características morfológicas de las cepas obtenidas, con una amplia gama de texturas y pigmentaciones de colonias. Se apreció un potencial de los actinomicetos, en particular la cepa GC4, que demostró una mejora significativa tanto en la germinación de semillas como en la emergencia de plántulas, superando notablemente al tratamiento control. La aplicación de la cepa EM se destacó al promover un significativo aumento en la altura de las plantas, así como en el diámetro de los hipocótilos, indicando un efecto positivo en el desarrollo vegetativo de las plántulas de cacao.

## Referencias bibliográficas

- Allen, S. L., Robayo, L. A., Martin, C. D., & Ganem, J. L. (2024). Productivity, Soil Health, and Tree Diversity in Dynamic Cacao Agroforestry Systems in Ecuador. *Land*, 13(7), 959.
- Aquihuatl, M., & Pérez, M. (2013). *Manual de prácticas del laboratorio de microbiología general*. Universidad Autónoma Metropolitana. Obtenido de [http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/MMICROBIO\\_GENERAL.pdf](http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/MMICROBIO_GENERAL.pdf)
- Araújo, J. (2012). Strategies for selective isolation of actinomycetes. *EMBRAPA. Jaguariuna - Brasil*. 367 p.
- Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., Casanoves, F., Di Rienzo, J., & Robledo, C. (2020). *InfoStat versión 2020*. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba. Obtenido de <http://www.infostat.com.ar>
- Bergey, J., Hendricks, D., & Holt, J. (2013). *Bergey's Manual of Determinative*. Lippincott Williams & Wilkins. Obtenido de <https://www.biodiversitylibrary.org/item/41848#page/9/mode/1up>
- Bhatti, A., Haq, S., & Bhat, R. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis III*: 458-467.
- Blare, T., & Useche, P. (2013). Competing objectives of smallholder producers in developing countries: examining cacao production in Northern Ecuador. *Environmental economics*, (4, Iss. 1), 72-80.

- Cardona, G., Peña, C., & Ruíz, M. (2009). Comunidades de hongos actinomicetos en tres tipos de vegetación de la Amazonia colombiana: abundancia, morfotipos y el gen 16s ADNr. *Revista de Biología Tropical* 57(4): 1119-1139.
- Caro -Castro, J., Mateo-Tuesta, C., Cisneros-Moscol, J., Galindo-Cabello, N., & León-Quispe, J. (2019). Aislamiento y selección de actinomicetos rizosféricos con actividad antagonista a fitopatógenos de la papa (*Solanum tuberosum* spp. andigena). *Ecología Aplicada* 18(2): 101-109.
- Caro-Castro, J. (2016). Capacidad antagonista de actinomicetos aislados de la rizósfera de la papa (*Solanum tuberosum* sp. andigena) para el control de hongos fitopatógenos de importancia agrícola . *Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú*. 123 p.
- Ceccarelli, V., Fremout, T., Chavez, E., Argüello, D., Loor Solórzano, R. G., Sotomayor Cantos, I. A., & Thomas, E. (2024). Vulnerability to climate change of cultivated and wild cacao in Ecuador. *Climatic Change*, 177(7), 103.
- Ceiro-Catasú, W., Gaibor-Fernández, R., Vargas-Gálvez, C., Botello-Guevara, H., Bonilla-Landaverry, G., & Sosa-Sánchez, O. (2023). Microorganismos autóctonos como alternativa para la biofertilización de *Glycine max* (L.) Merrill. *Agronomía Mesoamericana* 34(2): e51686.
- Cisneros, C., & Sanchez, M. (2015). Solubilización de fosfatos por hongos asociados a un Andisol de tres agroecosistemas cafeteros de la región andina colombiana. *Ingenium*, 9, 37. doi:DOI: <http://10.21774/ing.v9i25.586>
- Cisneros-Moscol, J. (2016). Aislamiento y selección de actinomicetos rizosféricos con potencial aplicación como bioinoculante en el cultivo de *Solanum tuberosum* sp. andigena (Papa) . *Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú*. 96 p.
- de Souza Rodrigues, R., de Souza, A. Q. L., Feitoza, M. D. O., Alves, T. C. L., Barbosa, A. N., da Silva Santiago, S. R. S., & de Souza, A. D. L. (2024). Biotechnological potential of actinomycetes in the 21st century: a brief review. *Antonie van Leeuwenhoek*, 117(1), 82.
- Diab, M. K., Mead, H. M., Ahmad Khedr, M. M., Abu-Elsaoud, A. M., & El-Shatoury, S. A. (2024). Actinomycetes are a natural resource for sustainable pest control and safeguarding agriculture. *Archives of Microbiology*, 206(6), 268.
- Duché-García, T., Ocampo-Fletes, I., Cruz-Hernández, J., Hernández-Guzmán, J., Macías-López, A., Jiménez-García, D., & Hernández-Romero, E. (2021). Microbial groups in a milpa agroecosystem interclassed with fruit trees in high valleys of Puebla, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 24: e72.
- Enriquez, G. (2013). *Cacao orgánico: Guía para productores ecuatorianos*. Obtenido de <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4571>
- García-Bernal, M., Medina-Marrero, R., Abasolo-Pacheco, F., Ojeda-Silvera, C., Arcos-Ortega, G., & Mazón-Suástegui, J. (2022). Efecto antifúngico de la cepa de *Streptomyces* sp. RL8 y su acción promotora en la germinación y crecimiento inicial del frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* Gray). *Terra Latinoamericana* 40: e1067.
- Ghorbani-Nasrabad, R., Greiner, R., Alikhani, H., Hamedi, J., & Yakhchali, B. (2013). Distribución de actinomicetos en diferentes ecosistemas del suelo y efecto de la

- composición del medio sobre la actividad de la fosfatasa extracelular. *Revista de ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 1, 223-236. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162013005000020>
- Higa, T., & Parr, J. (2014). *Beneficial and effective microorganism for sustainable agriculture and environment*. (Vol. 1). Centro Internacional de Investigación de Agricultura Natural: Atami: International Nature Farming Research Center. [https://www.researchgate.net/profile/Carla-Boga/publication/271640001\\_Microbes\\_to\\_clean\\_indoor\\_pollutants/links/5757da2508aef6cbe35fc541/Microbes-to-clean-indoor-pollutants.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Carla-Boga/publication/271640001_Microbes_to_clean_indoor_pollutants/links/5757da2508aef6cbe35fc541/Microbes-to-clean-indoor-pollutants.pdf)
- Izhar, S. K., Rizvi, S. F., Afaq, U., Fatima, F., & Siddiqui, S. (2024). Bioprospecting of Metabolites from Actinomycetes and their Applications. *Recent Patents on Biotechnology*, 18(4), 273-287.
- Jassim, Y. (2022). Screening for antimicrobial activities and enzymatic activities production of some actinomycetes spp. isolated from different soil samples from Hilla province. *Medicon Microbiology 1*: 23–9.
- Khamna, S., Yokota, A., Peberdy, J., & Lumyong, S. (2010). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. *EurAsian Journal of BioSciences 4*: 23-32.
- León, L., Liza, L., Cuadra, D., Patiño, L., & Zerpa, R. (2015). Actinomycetes bioactivos de sedimento marino de la costa central del Perú. *Revista Peruana de Biología*, 14, 259-270. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332007000300013](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332007000300013)
- Marelli, J. P., Guest, D. I., Bailey, B. A., Evans, H. C., Brown, J. K., Junaid, M., ... & Puig, A. S. (2019). Chocolate under threat from old and new cacao diseases. *Phytopathology*, 109(8), 1331-1343.
- Martínez, A., Roldan, A., & Pascual, J. (2011). Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* under conventional and low-input fertilization field conditions in melon crops: growth response and biocontrol of *Fusarium* wilt. *Ecología de suelos aplicada*, 2, 98-105. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.11.010>
- Miquinga-Tucres, A. (2022). Caracterización de actinomicetos rizosféricos con potencial benéfico en semillas de maíz. *Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo - Ecuador*. 97 p.
- Mohapatra, B., Verma, D., Dutta, H., & Panda, B. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): as a sustainable way of organic agriculture. *International Journal of Microbiology Allied Sciences 1*: 16-25.
- Naik, K., Mishra, S., Srichandan, H., Singh, P., & Sarangi, P. (2019). Plant growth promoting microbes: Potential link to sustainable agriculture and environment. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 21*: e101326.
- Ngamcharunghit, C., Chaimusik, N., Panbangred, W., Euanorasetr, J., & Intra, B. (2023). Bioactive metabolites from terrestrial and marine actinomycetes. *Molecules 28(15)*: e5915.
- Paco, V., & Guzmán, G. (2019). Efecto de enmiendas orgánicas sobre las poblaciones microbianas de la rizosfera del cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el

- altiplano Sur de Bolivia. *Journal of the Selva Andina Biosphere* 7(1): 32-43.
- Parada, R., Marguet, E., & Vallejo, M. (2017). Aislamiento y caracterización parcial de actinomicetos de suelos con actividad antimicrobiana contra bacterias multidrogo-resistentes. *Revista Colombia de Biotecnología*, 19, 17-23. <http://10.15446/rev.colomb.biote.v19n2.64098>
- Pérez, D., & Sosa, A. (2010). Evaluación de la tolerancia a la criopreservación de dos cepas de *Escherichia coli* K12 de uso frecuente en biotecnología. *VacciMonitor*, 19(2), 11-17. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=203415358003>
- Perry, S. (2013). Freeze-drying and cryopreservation of bacteria. *Molecular Biotechnology*, 38. <https://doi.org/10.1385/0-89603-296-5:21>
- Porras, Y., Pedreros, M., Reyes, W., & Balaguera, H. (2020). Light Effect on germination of Champa (*Campomanesia lineatifolia* R. & P.) seeds. *Ciencia y Agricultura* 17(2): 23-31.
- Quispe, E., & Salas, C. (2022). La imbibición de semillas en solución con microorganismos eficientes mejora el desarrollo de plántulas de *Daucus carota* L. *Manglar* 19(3): 279-284.
- Ramírez, K., Florida, N., & Escobar, F. (2019). Indicadores químicos y microbiológicos del suelo bajo aplicación de microorganismos eficientes en plantación de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales* 6(2): 21-28.
- Ramos, M. J., Beilhe, L. B., Alvarado, J., Rapidel, B., & Allinne, C. (2024). Disentangling shade effects for cacao pest and disease regulation in the Peruvian Amazonia. *Agronomy for Sustainable Development*, 44(1), 11.
- Reyes, M., Valdés, R., López, A., & Guridi, F. (2017). Mediciones de índices de verdor relacionadas con área foliar y productividad de híbrido de maíz. *Cultivos tropicales*, 38, 112-116. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362017000300016&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362017000300016&lng=es&tlng=es)
- Rivas-Nichorzon, M., González, M., Belloso, G., & Silva-Acuña, R. (2017). Poblaciones de hongos y actinomicetos presentes en el proceso de compostaje con base en bora (*Eichhornia crassipes*), residuos de café y de jardinería. *Saber, Universidad de Oriente, Venezuela* 29: 358-366.
- Salazar, A., Ordoñez, C., Hernández, D., Castaño, L., Peña, K., Rodríguez, J., & Bueno, L. (2014). Actinomicetos aislados del suelo del Jardín botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira. *Scientia Et Technica*, 19, 223-229. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84931680011>
- Sharma, M., Dangi, P., & Choudhary, M. (2014). Actinomycetes: source, identification and their applications. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3: 801-832.
- Shirling, E., & Gottlieb, D. (2013). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Tanya-Morocho, M., & Leiva-Mora, M. (2019). Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. *Centro Agrícola* 46(2): 93-103.

- Terry, E., Leyva, A., & Hernández, A. (2015). Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 7(2).
- Tinoco-Jaramillo, L., Vargas-Tierras, Y., Habibi, N., Caicedo, C., Chanaluisa, A., Paredes-Arcos, F., ... & Vásquez-Castillo, W. (2024). Agroforestry systems of cocoa (*Theobroma cacao* L.) in the Ecuadorian Amazon. *Forests*, 15(1), 195.
- Torres, J. (2023). Actividad antifúngica de actinomicetos marinos y quitosano para el control de *Fusarium solani* en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Tesis de Doctorado*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz. [http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/3152/torres\\_j%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/3152/torres_j%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Torres, L. (2012). *Manual de producción de cacao fino de aroma a través de manejo ecológico*. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3250/1/TESIS.pdf>
- Useche, P., & Blare, T. (2013). Traditional vs. modern production systems: Price and nonmarket considerations of cacao producers in Northern Ecuador. *Ecological Economics*, 93, 1-10. ISO 690
- Yáñez, S., Silvestre, L., & Chamorro, I. (2023). Contenido de clorofila en hojas de papas de altura para estimar la calidad de los tubérculos. *La Granja, Revista de Ciencias de la Vida* 38(2): 46-58.
- Yáñez-Ocampo, G., Sánchez-González, M., Portilla-López, N., Marmolejo-Santillán, Y., Águila-Juárez, P., Lugo-de la Fuente, J., & Vaca-Paulín, R. (2020). Densidad poblacional de actinomicetos en suelos florícolas, enmendados con vermicomposta. *Terra Latinoamericana* 38(4): 745-753.
- Zhang, Z., Kang, Y., & Che, L. (2019). Composition and thermal characteristics of seed oil obtained from Chinese amaranth. *LWT-Food Science and Technology* 111: 39-45.