



Universidad
Popular del Cesar

Evaluación in vitro del efecto de compuestos metálicos y *Bacillus mycoides* como
bioestimulante en el crecimiento de *Cucurbita moschata* bajo estrés hídrico.

Presentado por

Laura Vanessa Murgas Puello

María Gabriela Piedrahita Ossa

Presentado al

Departamento de Biología, Microbiología y afines

Facultad de Ciencias Básicas

Universidad Popular del Cesar

Línea de Investigación

Bioprospección

Valledupar, Colombia.

Agosto 2026



Dedicatorias

Primeramente, **a Dios** quien sostuvo mi corazón y me permitió seguir adelante. Por brindarme fortaleza en los momentos difíciles y por recordarme que los sueños se alcanzan cuando se camina con fe.

A mi madre, Marina Ossa mi ángel en el cielo, por tu amor, tus enseñanzas y el recuerdo de tu sonrisa que se convirtió en la fuerza que me impulsó a continuar cuando pensaba que no podía más, esta tesis es un tributo a tu legado y a todo lo que me enseñaste. Siempre en mi corazón, Te amo.

A mi tía y abuela, Maria Eugenia y Maria Antonia, por su amor incondicional, su apoyo constante y por haber sido mi refugio y mi fortaleza en cada etapa de mi vida. Gracias por creer en mí incluso cuando el camino parecía difícil, por sus consejos y sus oraciones.

A mis tutores, Javier y Nelson, gracias por su orientación, compromiso, dedicación. Y acompañamiento fueron fundamentales para el desarrollo de esta tesis y para nuestro crecimiento profesional.

María Gabriela Piedrahita

En primer lugar, a Dios por ser mi guía y darme la fuerza necesaria para no rendirme. Gracias por sostenerme en cada dificultad y por enseñarme que con fe todo es posible.

A mi mamá, padre y hermanas, por su amor infinito, por cada consejo y por la luz de su sonrisa que me dio aliento cuando sentí que no podía continuar. Este logro es en honor a su memoria y a todo lo que me inculcaron. Los llevo siempre en mi corazón. Los amo.

A nuestros directores de tesis, Javier y Nelson, por su paciencia, guía y entrega. Gracias por creer en este proyecto y por acompañarnos en nuestro crecimiento académico y personal.

Laura Vanessa Murgas Puello



Resumen

El presente estudio evaluó el efecto combinado de complejos metálicos de ácido nicotínico, cobre, zinc y manganeso, y de la bacteria *Bacillus mycoides*, sobre el crecimiento y desarrollo de *Cucurbita moschata* bajo condiciones de estrés hídrico, mediante un enfoque cuantitativo, explicativo y experimental. Para ello, se desarrollaron cuatro ensayos experimentales sucesivos, cada uno con un nuevo lote de semillas de auyama desinfectadas e hidratadas en soluciones con diferentes concentraciones de dichos complejos metálicos: un ensayo de germinación, un ensayo en sistema hidropónico y dos ensayos bajo condiciones de estrés hídrico, con y sin inoculación de la bacteria. En la fase de germinación se evaluó el porcentaje de germinación y la longitud de la raíz; en hidroponía se determinó la longitud de la raíz; y en la etapa de estrés hídrico se evaluó la longitud de la raíz y el contenido de clorofila a, clorofila b y carotenoides. Los datos fueron analizados mediante ANOVA y la prueba de comparación de medias de Tukey.

En la etapa de germinación, el porcentaje de germinación no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que el manganeso fue el único complejo metálico que incrementó significativamente la longitud de la raíz ($F = 5,51$; $p < 0,001$). En hidroponía, el ácido nicotínico, el cobre y el manganeso promovieron un aumento significativo de la longitud radical ($F = 6,56$; $p = 0,002$, $F = 7,55$; $p = 0,001$ y $F = 4,18$; $p = 0,014$, respectivamente), mientras que el zinc no presentó diferencias significativas ($p = 0,159$). Bajo estrés hídrico, los complejos metálicos aplicados por sí solos no generaron diferencias significativas en ninguno de los tres pigmentos evaluados. Sin embargo, su combinación con *Bacillus mycoides* produjo incrementos significativos en el contenido de clorofila a ($F = 38,09$; $p < 0,001$), clorofila b ($F = 10,99$; $p < 0,001$) y carotenoides ($F = 20,74$; $p < 0,001$), siendo el tratamiento Cu+B el que mostró la mayor respuesta. Estos resultados indican que la combinación de *B. mycoides* con cobre, zinc y manganeso favoreció el mantenimiento de los



pigmentos fotosintéticos bajo condiciones de estrés hídrico, mientras que los complejos metálicos aplicados de forma individual no produjeron este efecto.

Palabras clave: Complejos metálicos, *Bacillus mycoides*, Bioestimulantes, Estrés hídrico.



Tabla de Contenido

Introducción.....	12
Problema.....	14
Justificación.....	16
Objetivos	18
Objetivo General	18
Objetivo Específicos.....	18
Marco Referencial.....	19
Antecedentes	19
Marco teórico.....	24
Marco legal.....	30
Metodología	33
Enfoque y tipo de estudio	33
Universo, población y muestra.....	33
Criterios de inclusión y exclusión.....	34
Variables.....	34
Delimitaciones geográficas y temporales	35
Consideraciones éticas	35
Técnicas y procedimientos experimentales.....	36
Diseño experimental	41
Análisis estadístico.....	41
Resultados	42
1. Etapa: Ensayos de germinación	42



1.1. Ensayo de Germinación con aplicación de Ácido Nicotínico	42
1.2. Ensayo de Germinación con aplicación de Zinc	47
1.3. Ensayo de Germinación con aplicación de Manganeseo	48
1.4. Ensayo de Germinación con aplicación de Cobre.....	50
1.5. Resumen de los resultados de la etapa de germinación	52
1. Etapa: Ensayos de hidroponía	53
1.1. Ensayo de Hidroponía con complejo de ácido nicotínico	53
1.2. Ensayo de Hidroponía con complejo de Zinc.....	54
1.3. Ensayo de Hidroponía con complejo de manganeso	56
1.4. Ensayo de Hidroponía con complejo de cobre	58
2. Etapa (Estrés Hídrico)	61
2.1. Ensayo de Estrés Hídrico con complejos metálicos	61
2.2. Ensayo de Estrés Hídrico + Bacteria con complejos metálicos.....	69
Discusión.....	78
Efecto de los compuestos metálicos sobre la germinación y el crecimiento inicial.....	85
Efecto combinado de compuestos metálicos y <i>Bacillus mycoides</i> sobre la tolerancia al estrés hídrico	87
Conclusión	85
Recomendaciones	87
Bibliografía	90
Anexos	98



Lista de Tablas

Tabla 1 Comparación de efectos de <i>B. mycoides</i> frente a otras PGPR bajo estrés abiótico	22
Tabla 2 Operacionalización de las variables del estudio	34
Tabla 3 Porcentaje de germinación (media $\pm$ desviación estándar) de Cucurbita <i>moschata</i> bajo diferentes concentraciones de ácido nicotínico, zinc, manganeso y cobre.....	43
Tabla 4 Longitud de raíz (media $\pm$ desviación estándar, en cm) de Cucurbita <i>moschata</i> en la etapa de germinación, bajo diferentes concentraciones de ácido nicotínico, zinc, manganeso y cobre.....	45
Tabla 5 Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para la longitud de raíz en la Etapa 1 de germinación.....	52
Tabla 6 Análisis estadístico de la longitud de la raíz de Cucurbita <i>moschata</i> bajo diferentes concentraciones de ácido nicotínico	53
Tabla 7 Análisis estadístico de la longitud de la raíz de Cucurbita <i>moschata</i> bajo diferentes concentraciones de zinc	55
Tabla 8 Análisis estadístico de la longitud de la raíz de Cucurbita <i>moschata</i> bajo diferentes concentraciones de manganeso.....	57
Tabla 9 Análisis estadístico de la longitud de la raíz de Cucurbita <i>moschata</i> bajo diferentes concentraciones de cobre.....	59
Tabla 10 Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para la longitud de raíz en la Etapa 2 de hidroponía	60
Tabla 11 Análisis estadístico de la longitud de la raíz de Cucurbita <i>moschata</i> bajo estrés hídrico.....	62
Tabla 12 Análisis estadístico de los pigmentos (clorofila a)	64
Tabla 13 Análisis estadístico de los pigmentos (clorofila b)	66
Tabla 14 Análisis estadístico de los pigmentos (carotenoides).....	68
Tabla 15 Análisis estadístico de la longitud de la raíz de Cucurbita <i>moschata</i> bajo estrés hídrico + bacteria	70



Tabla 16 Análisis estadístico de los pigmentos (clorofila a + bacteria)	73
Tabla 17 Análisis estadístico de los pigmentos (clorofila b + bacteria)	75
Tabla 18 Análisis estadístico de los pigmentos (carotenoides + bacteria).....	77
Tabla 19 Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para clorofila a, clorofila b y carotenoides, con y sin inoculación de Bacillus mycoides (Etapas 3-1 y 3-2)	78



Lista de Figuras

Figura 1 Efecto de diferentes concentraciones de ácido nicotínico sobre la longitud de la raíz (cm) de Cucurbita <i>moschata</i>	42
Figura 2 Efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre la longitud de la raíz (cm) de Cucurbita <i>moschata</i>	45
Figura 3 Efecto de diferentes concentraciones de manganeso sobre la longitud de la raíz (cm) de Cucurbita <i>moschata</i>	48
Figura 4 Efecto de diferentes concentraciones de cobre sobre la longitud de la raíz (cm) de Cucurbita <i>moschata</i>	52
Figura 5 Efecto de diferentes concentraciones de ácido nicotínico sobre la longitud de la raíz (cm) de Cucurbita <i>moschata</i>	54
Figura 6 Efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre la longitud de la raíz (cm) de Cucurbita <i>moschata</i>	56
Figura 7 Efecto de diferentes concentraciones de manganeso sobre la longitud de la raíz (cm) de Cucurbita <i>moschata</i>	58
Figura 8 Efecto de diferentes concentraciones de cobre sobre la longitud de la raíz (cm) de Cucurbita <i>moschata</i>	60
Figura 9 Efecto de los complejos metálicos sobre la longitud de la raíz (cm) de Cucurbita <i>moschata</i> bajo estrés hídrico.....	63
Figura 10 Clorofila a (µg/g) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico	65
Figura 11 Clorofila b (µg/g) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico	67
Figura 12 Carotenoides (µg/g) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico....	69
Figura 13 Efecto de los complejos metálicos sobre la longitud de la raíz (cm) de Cucurbita <i>moschata</i> bajo estrés hídrico + bacteria	72
Figura 14 Clorofila a + bacteria (µg/g) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico	74
Figura 15 Clorofila b + bacteria (µg/g) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico.....	76



Figura 16 Carotenoides + bacteria ($\mu\text{g/g}$) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico.....78



Lista de Anexos

Anexo 1. Ensayo de germinación Ácido Nicotínico 1	98
Anexo 2. Ensayo de germinación Zinc 1/2.....	98
Anexo 3. Ensayo de germinación Manganeso 1/4	99
Anexo 4. Ensayo de germinación Cobre 2.....	99
Anexo 5. Ensayo de Hidroponía (Ácido Nicotínico 1/2).....	100
Anexo 6. Ensayo de Hidroponía (Zinc 1/2)	100
Anexo 7. Ensayo de Hidroponía (Manganeso 2)	101
Anexo 8. Ensayo de Hidroponía (Cobre 1)	101
Anexo 9. Estrés hídrico sin bacteria (Ácido Nicotínico)	102
Anexo 10. Estrés hídrico sin bacteria (Zinc)	102
Anexo 11. Estrés hídrico sin bacteria (Manganeso)	103
Anexo 12. Estrés hídrico sin bacteria (Cobre)	103
Anexo 13. Estrés hídrico + bacteria (Ácido Nicotínico).....	104
Anexo 14. Estrés hídrico + bacteria (Zinc).....	104
Anexo 15. Estrés hídrico + bacteria (Manganeso).....	105
Anexo 16. Estrés hídrico + bacteria (Cobre).....	105

Introducción

La auyama (*Cucurbita moschata*) es una especie agrícola importante que posee gran relevancia para la seguridad alimentaria y la agroindustria debido a su alta plasticidad agronómica, versatilidad culinaria y valor nutricional (Rodríguez et al., 2026). Sus frutos son una fuente rica de carotenoides, vitaminas, minerales, almidón y aceites que contienen ácidos grasos insaturados, lo cual incrementa su potencial como materia prima sostenible para la industria alimentaria y los alimentos funcionales (García, 2025). Además, la pulpa presenta alta digestibilidad biológica, mientras que las semillas contienen fracciones lipídicas de interés nutricional, lo que convierte a esta especie en un cultivo estratégico para el consumo humano y el desarrollo de la agricultura regional (Pinilla & Surley, 2017).

En cuanto a su composición, la auyama se destaca por sus altos niveles de vitamina A, carbohidratos, fósforo, potasio, calcio y magnesio (Zhang et al., 2021). Asimismo, contiene concentraciones de carotenoides totales que, según lo reportado en genotipos e híbridos de *C. moschata* tipo *butternut*, oscilan alrededor de 27 mg/kg de peso fresco del fruto, aunque con una variabilidad considerable entre genotipos (coeficientes de variación superiores al 60 %), lo que evidencia un amplio margen para su mejoramiento nutricional (Brdar-Jokanović et al., 2025). Entre estos pigmentos se incluyen el β -caroteno, el α -caroteno y la luteína, asociados con propiedades antioxidantes y beneficios para la salud (Brdar-Jokanović et al., 2025). Es relevante señalar que el mismo estudio evidenció que el estrés por altas temperaturas reduce de manera significativa el contenido de carotenoides del fruto e incrementa su contenido de azúcares, lo que confirma la sensibilidad de esta especie frente a condiciones ambientales adversas, un aspecto directamente relacionado con el fenómeno de estrés abiótico que se aborda en la presente investigación (Brdar-Jokanović et al., 2025). Estos compuestos bioactivos han impulsado, además, el desarrollo de productos funcionales a partir del fruto, y se ha encontrado que la incorporación de pulpa de *C. moschata* aumenta la capacidad antioxidante en formulaciones de alimentos funcionales (Sánchez et al., 2023).

Sin embargo, el rendimiento y la respuesta fisiológica de los cultivos bajo condiciones de estrés abiótico continúan siendo limitantes para la productividad, lo que ha motivado



investigaciones sobre bioestimulantes agrícolas (Beleño et al., 2022). Entre estos, los microorganismos promotores del crecimiento, como *Bacillus mycoides*, han demostrado su capacidad para mejorar el desarrollo de las plantas e incrementar su resistencia al estrés. Esto se ha evidenciado mediante cambios en el contenido de prolina, clorofila, polifenoles y contenido relativo de agua en cultivos sometidos a salinidad (Ali et al., 2022; Beleño-Carrillo et al., 2022).

De manera complementaria, la nutrición mineral mediante compuestos metálicos esenciales, como cobre, zinc, hierro y manganeso, cumple un papel crítico en procesos metabólicos asociados con la fotosíntesis, la actividad enzimática y los sistemas antioxidantes en las plantas (Gupta et al., 2024). La integración de estos compuestos metálicos en bioestimulantes microbianos constituye una estrategia prometedora para optimizar el crecimiento vegetal y la resistencia al estrés, promoviendo la sostenibilidad en los sistemas productivos. En este contexto, el presente estudio evaluó la optimización del crecimiento de *Cucurbita moschata* mediante el uso de complejos metálicos combinados con *Bacillus mycoides*, examinando sus efectos fisiológicos bajo condiciones de estrés hídrico.

Problema

En los últimos años, el cambio climático ha mostrado un incremento significativo en su intensidad y frecuencia, generando alteraciones en las condiciones ambientales a nivel global. (Ortiz *et al.*, 2021). Este fenómeno, junto con el crecimiento de la población mundial, representa una amenaza directa para la seguridad alimentaria, debido a su impacto sobre la producción agrícola (Teng, 2024). Entre sus principales efectos se destaca el aumento de la temperatura global, el cual está estrechamente relacionado con la incidencia de sequías (Ortiz *et al.*, 2021), generando condiciones de estrés hídrico que afectan directamente procesos fisiológicos en los cultivos, como la germinación, el crecimiento y la absorción de nutrientes (Zhang *et al.*, 2022). Estas alteraciones impactan de manera significativa el desarrollo y la productividad de especies como *Cucurbita moschata*, haciendo necesario el estudio de estrategias como el uso de compuestos metálicos y microorganismos promotores del crecimiento vegetal, que permitan mejorar su respuesta frente a estas condiciones adversas (Chieb *et al.*, 2023)

En Colombia, estas variaciones climáticas incrementan la vulnerabilidad de los sistemas productivos agrícolas, especialmente en zonas donde la disponibilidad de agua es limitada o variable (IPCC, 2022). Esta situación no solo reduce el rendimiento de los cultivos, sino que también afecta su calidad y favorece la incidencia de enfermedades, impactando directamente a pequeños y medianos productores. Entre las hortalizas que son significativas para el suministro de alimentos en el país destaca la auyama (*Cucurbita moschata*), una planta de gran relevancia económica y nutricional en la región Caribe colombiana, que se cultiva de manera extensiva por pequeños agricultores gracias a su adaptabilidad a climas cálidos y su importancia dietética (Correa *et al.*, 2019).

En este sentido, algunas plantas de la familia Cucurbitaceae, entre ellas la especie *Cucurbita moschata*, muestran alta susceptibilidad a la falta de agua, afectando directamente su desarrollo y producción (Zhang *et al.*, 2022). Aunque existen estrategias tradicionales para prevenir el estrés hídrico, tales como la utilización de riego intenso o fertilización química, estas alternativas no siempre pueden ser aplicadas debido a su alto costo y efecto negativo



en el medio ambiente, por lo tanto, es necesario evaluar otras alternativas de manejo de estrés abiótico de bajo costo y fácil aplicación, tales como los microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPR), que permiten mejorar el crecimiento vegetal, la disponibilidad de nutrientes y la resistencia de las plantas frente al estrés abiótico (Lee, 2024). Además, los compuestos metálicos tienen un rol clave en varios procesos enzimáticos y metabólicos de las plantas (Alloway, 2022). Estos enfoques han sido ampliamente estudiados de manera independiente; sin embargo, existe un vacío de conocimiento respecto a su efecto combinado o sinérgico, especialmente bajo condiciones de estrés hídrico y en sistemas controlados como los estudios in vitro.

Por lo tanto, el problema de investigación se enfoca en la necesidad de evaluar el efecto sinérgico entre compuestos metálicos y la inoculación con *Bacillus mycoides* sobre el crecimiento y desarrollo de *Cucurbita moschata* bajo condiciones de estrés hídrico, con el fin de generar estrategias biotecnológicas eficientes que mejoren su productividad.

Pregunta problema: ¿Cuál es el efecto de la aplicación de complejos metálicos de y *Bacillus mycoides* en el crecimiento de *Cucurbita moschata* bajo condiciones de estrés hídrico?

Justificación

El estrés hídrico, asociado a la creciente variabilidad climática, constituye una de las principales limitantes para la productividad agrícola en regiones tropicales (Ortiz et al., 2021). Las estrategias convencionales para enfrentar esta condición, como el riego intensivo o la aplicación de insumos químicos, resultan costosas para pequeños productores y ambientalmente insostenibles, lo que dificulta su implementación a gran escala y compromete la sostenibilidad de los sistemas de producción (Guerra et al., 2022). La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2019) ha señalado que, si no se ponen en marcha estrategias de adaptación, el cambio climático afectará tanto la disponibilidad como el acceso a los alimentos en todo el mundo, lo que hace todavía más necesario buscar opciones biotecnológicas eficientes y sostenibles que puedan aplicarse a los sistemas productivos de cada región.

El problema cobra fuerza en cultivos como *Cucurbita moschata*, uno de los más sembrados en la región Caribe colombiana y un pilar para la seguridad alimentaria y la economía local (Correa et al., 2019). Aunque este cultivo se adapta bien a temperaturas altas y soporta periodos de sequía moderada, su producción puede caer en zonas como el norte del departamento del Cesar. Estas condiciones afectan funciones vitales de la planta, como la fotosíntesis, el metabolismo y la regulación osmótica, lo que termina notándose en su crecimiento y en su rendimiento (IDEAM, 2017; Martínez et al., 2020; Sánchez, 2023).

Frente a este panorama, la investigación encuentra su razón de ser en la necesidad de aportar conocimiento científico sobre alternativas sostenibles que ayuden a los cultivos a desarrollarse mejor bajo condiciones adversas. Los bioestimulantes, y de manera particular los microorganismos que promueven el crecimiento vegetal abren un camino prometedor: producen respuestas fisiológicas que aumentan la tolerancia de las plantas al estrés y elevan su rendimiento (Goncalves et al., 2025). En la misma línea, el aporte de micronutrientes metálicos puede ayudar a que los procesos metabólicos funcionen mejor y a que las plantas resistan con mayor facilidad las condiciones de estrés hídrico (Cakmak, 2020).

Desde el punto de vista científico, esta investigación permitió generar conocimiento sobre el efecto combinado de *Bacillus mycoides* y compuestos metálicos en el crecimiento de *Cucurbita moschata* bajo condiciones de estrés hídrico, abordando un vacío existente en la literatura. Desde el enfoque metodológico, el desarrollo del estudio en condiciones in vitro permitió un control preciso de las variables, facilitando la obtención de resultados confiables y reproducibles.

Finalmente, desde una perspectiva social y ambiental, los resultados de esta investigación podrán contribuir al desarrollo de estrategias sostenibles aplicables en sistemas agrícolas locales, favoreciendo la productividad de cultivos en condiciones limitantes y reduciendo la dependencia de insumos químicos. De esta manera, se aporta al fortalecimiento del sector agrícola, la seguridad alimentaria y la adaptación al cambio climático en regiones vulnerables como el departamento del Cesar.

Por lo cual, una alternativa para potenciar y aumentar el crecimiento y desarrollo de las plantas de cultivo en ambientes con estrés hídrico es la utilización de bioestimulantes; estos productos poseen propiedades que benefician el crecimiento de las plantas, además de que pueden mejorar su capacidad para tolerar diversos tipos de estrés biótico y abiótico (Beleño et al., 2022).

Según el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2021), la producción hortícola en Colombia presenta limitaciones estructurales que afectan su capacidad de abastecer completamente el mercado interno. Frente a esta problemática, se plantea una visión diferente basada en el uso de bioestimulantes, entendidos en el ámbito agrícola como sustancias o microorganismos beneficiosos que provocan respuestas fisiológicas en las plantas, especialmente en situaciones adversas, y que contribuyen a mejorar su rendimiento al ayudarles a tolerar el estrés (Shah et al., 2021, citado por Valero et al., 2023).



Objetivos

Objetivo General

Determinar el efecto individual y combinado de la aplicación de complejos metálicos (AN, Cu, Zn y Mn) y la inoculación con *Bacillus mycoides* sobre la germinación, el crecimiento y las respuestas fisiológicas de *Cucurbita moschata* bajo condiciones de estrés hídrico en un sistema experimental controlado.

Objetivo Específicos

- Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de complejos metálicos de ácido nicotínico (AN) con Cu, Zn y Mn sobre la germinación y el crecimiento inicial de plántulas de *Cucurbita moschata*, mediante la medición del porcentaje de germinación y la longitud de la raíz.
- Estudiar el efecto de la inoculación con *Bacillus mycoides* sobre el crecimiento y las respuestas fisiológicas de *Cucurbita moschata* bajo condiciones de estrés hídrico, empleando variables como la longitud de raíz y el contenido de clorofila a, clorofila b y carotenoides.
- Analizar el efecto combinado de los compuestos metálicos de ácido nicotínico (AN) con Cu, Zn y Mn y *Bacillus mycoides* sobre el crecimiento y la tolerancia al estrés hídrico de *Cucurbita moschata*, identificando posibles interacciones sinérgicas entre ambos factores.

Marco Referencial

Antecedentes

El estrés hídrico constituye uno de los factores abióticos más limitantes para la producción agrícola, ya que afecta de manera directa múltiples procesos fisiológicos y metabólicos en las plantas. En cultivos como *Cucurbita moschata*, la reducción en la disponibilidad de agua impacta negativamente la germinación, el crecimiento radicular, la fotosíntesis y la acumulación de biomasa, lo que se traduce en una disminución del rendimiento y la calidad del cultivo. Un estudio realizado en Palmira (Valle del Cauca) por Rodríguez-Restrepo et al. (2026), evaluó la respuesta de tres cultivares de auyama (UNAPAL Abanico-75, UNAPAL Bolo Verde y UNAPAL Dorado) sometidos a diferentes regímenes de humedad del suelo, encontrando que el déficit hídrico redujo la biomasa, el área foliar y el número de estomas, mientras que incrementó la acumulación de prolina, malondialdehído (MDA) y la actividad de las enzimas SOD, POD, APX y CAT. No obstante, aunque este estudio describe claramente las respuestas fisiológicas al estrés hídrico, no profundiza en estrategias de mitigación, lo que pone en evidencia la necesidad de investigar alternativas que permitan contrarrestar estos efectos.

Frente a esta problemática, el uso de microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPR) ha sido ampliamente investigado como estrategia biotecnológica para mejorar la tolerancia de las plantas frente al estrés abiótico. Chieb et al. (2023), en una revisión sistemática publicada en *BMC Plant Biology*, evidenciaron que la inoculación con PGPR mejora el crecimiento vegetal y la tolerancia al déficit hídrico. En la misma línea, Ahmad et al. (2022), en *Frontiers in Microbiology*, mostraron que la inoculación con PGPR aumenta de forma marcada el contenido de clorofila, la biomasa y la eficiencia de absorción de nutrientes bajo estrés abiótico. Lee (2024) llegó a una conclusión similar, señalando que las PGPR mejoran la disponibilidad y absorción de nutrientes esenciales en condiciones de sequía. Ambas revisiones coinciden en que los efectos de las PGPR varían considerablemente según la especie bacteriana, el cultivo evaluado y las condiciones

experimentales, por lo que conviene seguir probando cepas específicas en cultivos concretos y en escenarios controlados.

En la Universidad Popular del Cesar, Beleño et al. (2022) demostraron que la aplicación de *Bacillus mycoides* en combinación con ácidos húmicos incrementó el contenido hídrico de las plantas y activó mecanismos fisiológicos de tolerancia al estrés abiótico en frijol caupí (*Vigna unguiculata*). Aunque este estudio se desarrolló bajo condiciones de salinidad, su aporte central radica en haber evidenciado que la combinación de *B. mycoides* con un cofactor químico potencia su efecto bioestimulante, lo que abre la posibilidad de explorar combinaciones similares con compuestos metálicos en cultivos sometidos a déficit hídrico, eje de la presente investigación.

Distintos estudios sobre el género *Bacillus* sp., también han mostrado su utilidad como bioestimulante en condiciones de estrés. Ali et al. (2022), en Pakistán, evaluaron *Bacillus mycoides* PM35 en maíz (*Zea mays*) bajo estrés salino (0–900 mM NaCl), encontrando que la inoculación incrementó la longitud de raíz y brote, elevó los niveles de pigmentos fotosintéticos y carotenoides, y redujo de manera importante la concentración de H₂O₂ y de malondialdehído. De manera similar, Fadji et al. (2022), reportaron que la inoculación con *Bacillus* sp., mejoró la eficiencia fotosintética y la respuesta antioxidante de plantas sometidas a estrés hídrico.

Por otra parte, diversos estudios han evaluado el efecto de los compuestos metálicos sobre la respuesta de las plantas frente al estrés hídrico. Samota et al. (2024), en el ICAR-Indian Agricultural Research Institute (India), evaluaron el priming de semillas de arroz (*Oryza sativa*) con hierro, zinc y metil jasmonato bajo déficit hídrico, evidenciando incrementos en el contenido de carotenoides (10–19 %), prolina (60–80 %) y en las actividades de superóxido dismutasa (27–62 %), ascorbato peroxidasa (46–61 %) y catalasa (50–80 %). El-Shazoly et al. (2025) reportaron que el priming con óxido de zinc en trigo (*Triticum aestivum*) bajo estrés hídrico incrementó la actividad de peroxidasa hasta en un 289 % y el contenido de aminoácidos libres en más del 500 % en raíces. Adicionalmente, Morales (2022), en el Tecnológico Nacional de México, evidenció que la biofortificación con zinc, combinada con

hongos micorrízicos arbusculares, mejora la absorción mineral y el rendimiento de cultivos sometidos a condiciones limitantes. No obstante, estos estudios se centran en compuestos metálicos individuales (Zn o Fe) y, en el caso de Morales (2022), en asociaciones micorrízicas, dejando de lado la interacción con bacterias promotoras del crecimiento y la combinación simultánea de los cuatro compuestos metálicos (Cu, Zn, Fe y Mn) bajo estrés hídrico.

En este sentido, investigaciones más recientes han comenzado a explorar la interacción entre PGPR y compuestos metálicos. Guardiola et al. (2023), en la Universitat Politècnica de València (España), reportaron que la combinación de zinc y hierro con bacterias PGPR generó un efecto sinérgico, mejorando significativamente el desarrollo radicular, la biomasa aérea y la absorción de nutrientes. A pesar de este avance, el estudio no se desarrolló bajo condiciones de estrés hídrico ni en cultivos del género *Cucurbita*, lo que limita su aplicabilidad a contextos específicos.

Adicionalmente, Posadas (2015), en México, evidenció que la aplicación de microorganismos beneficiosos mejora parámetros agronómicos como la germinación, el número de hojas, la altura de la planta y la biomasa, lo que refuerza el potencial de estas estrategias en la agricultura sostenible.

En cuanto a la selección de *Bacillus mycoides* como organismo de estudio, esta se fundamenta en evidencia adicional sobre su efectividad como bioestimulante. Yang et al. (2026), en la Universidad Agrícola de Gansu (China), reportaron que *B. mycoides* Y1, en consorcio con *Sinorhizobium meliloti*, mejoró la tolerancia a la sequía en alfalfa mediante el ajuste osmótico y la reducción del contenido de malondialdehído. Liang et al. (2025), en *Plant-Environment Interactions*, aislaron la cepa *B. mycoides* GN-1 del suelo rizosférico de *Elymus sibiricus* en la meseta del Qinghai-Tíbet, y demostraron que su inoculación incrementó la biomasa aérea un 19,29 % y la biomasa radicular un 54,38 %. Adicionalmente, Ambrosini et al. (2015) secuenciaron el genoma de *B. mycoides* B38V, aislado de girasol, confirmando a nivel genético su potencial como promotor del crecimiento vegetal. La Tabla 1 sintetiza la

evidencia experimental que respalda la mayor efectividad de *B. mycoides* frente a otras PGPR comúnmente utilizadas en condiciones de estrés abiótico.

Tabla 1 Comparación de efectos de *B. mycoides* frente a otras PGPR bajo estrés abiótico

PGPR	Cultivo	Tipo de estrés	Principales efectos reportados	Referencia
<i>Bacillus mycoides</i> PM35	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Salino (0–900 mM NaCl)	Aumento de longitud de raíz y brote, pigmentos fotosintéticos, carotenoides y capacidad antioxidante; reducción de H ₂ O ₂ y MDA	Ali et al. (2022)
<i>Bacillus mycoides</i> Y1 (consorcio con <i>Sinorhizobium meliloti</i>)	Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	Hídrico	Aumento del ajuste osmótico, reducción de MDA, mejora del desarrollo radicular	Yang et al. (2026)
<i>Bacillus mycoides</i> GN-1	<i>Elymus sibiricus</i>	Sin estrés (efecto basal)	Aumento de biomasa aérea (19,29 %) y radicular (54,38 %)	Liang et al. (2025)
<i>Bacillus mycoides</i> + ácidos húmicos	Frijol caupí (<i>Vigna unguiculata</i>)	Salino	Aumento del contenido hídrico, clorofila y prolina	Beleño et al. (2022)
<i>Bacillus subtilis</i>	Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	Hídrico	Mejora moderada en biomasa y contenido relativo de agua	Danish y Zafar-ul-Hye (2019)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Diversos	Hídrico	Menor capacidad de formar endosporas que <i>Bacillus</i>	Chieb y Gachomo (2023)
<i>Azospirillum brasilense</i>	Maíz	Hídrico	Mejora radicular; menor viabilidad en desecación que <i>Bacillus</i>	Cohen et al. (2009)

Nota. Elaborada por los autores con base en los estudios citados. APX: ascorbato peroxidasa; SOD: superóxido dismutasa; MDA: malondialdehído; IAA: ácido indolacético; RWC: contenido relativo de agua; EPS: exopolisacáridos.

La Tabla 1 reúne la evidencia experimental que respalda la selección de *B. mycoides* como bioestimulante para esta investigación, aunque conviene tener presente que la mayor parte de los datos proviene de cultivos distintos a *Cucurbita moschata* y de escenarios de estrés salino, lo cual deja un espacio claro para estudiar su desempeño en auyama bajo déficit hídrico.

Aun con todo lo publicado sobre bioestimulantes microbianos y compuestos metálicos en agricultura sostenible, los antecedentes revisados muestran que el tema ha sido abordado de forma parcial. Los trabajos sobre *Bacillus mycoides* se concentran en estrés salino (Beleño et al., 2022; Ali et al., 2022) o en consorcios microbianos bajo sequía, pero con cultivos distintos a la auyama (Yang et al., 2026; Liang et al., 2025). Los estudios sobre compuestos metálicos en déficit hídrico, por su parte, suelen evaluar elementos por separado (Zn o Fe), y cuando se combinan con microorganismos benéficos lo hacen mediante asociaciones micorrízicas, no con bacterias promotoras del crecimiento (Morales, 2022; Samota et al., 2024; El-Shazoly et al., 2025). Guardiola et al. (2023) son los únicos que han explorado la interacción entre PGPR y compuestos metálicos (Zn y Fe), pero su trabajo no incluye estrés hídrico ni cultivos del género *Cucurbita*.

Queda entonces un vacío puntual de conocimiento: no se ha estudiado de forma integral cómo actúan en conjunto *Bacillus mycoides* y los complejos metálicos (Cu, Zn, Fe y Mn) sobre las variables fisiológicas y agronómicas de *Cucurbita moschata* en condiciones controladas de estrés hídrico. Se trata de un vacío que importa, porque sin esa información es difícil diseñar estrategias biotecnológicas sostenibles que aprovechen una posible sinergia entre ambos factores, sobre todo en cultivos hortícolas de peso regional como la auyama en el Caribe colombiano. De ahí la importancia de estudios experimentales como este, que permitan medir esos efectos con precisión y aporten al desarrollo de alternativas sostenibles para mejorar la productividad agrícola frente al estrés abiótico.

Marco teórico

Auyama

La auyama (*Cucurbita moschata*) es una planta dicotiledónea, herbácea anual, rastrera o trepadora de la familia Cucurbitaceae, con tallos pilosos pentangulares que alcanzan hasta 5 m y zarcillos para trepar. Sus hojas son grandes (hasta 30 cm), de aspecto acorazonado o lobulado, a menudo con manchas blancas y tacto áspero. Produce flores amarillas unisexuales, pepónides de formas variables (esféricos a piriformes) de pulpa naranja y semillas blancas. En condiciones de cultivo, las plantas de calabaza prefieren un suelo denso, bien drenado, y requieren abundante disponibilidad de agua, especialmente durante la temporada seca cálida. Para su correcto desarrollo, los cultivares disponibles requieren amplio espacio que permita el crecimiento del tallo y el desarrollo adecuado de los frutos (Pinilla et al., 2017).

La auyama se desarrolla preferentemente en suelos de textura franca a franco-arenosa, bien drenados y con adecuada disponibilidad de materia orgánica. Este cultivo presenta un óptimo desarrollo en suelos con pH entre 5,5 y 7,5, y muestra buena adaptación a climas tropicales cálidos y húmedos, característicos de regiones como el Caribe colombiano. Su crecimiento vegetativo y reproductivo es favorecido por temperaturas entre 20 °C y 30 °C, mientras que temperaturas extremas superiores a 35–38 °C pueden afectar la floración, el cuajado de frutos y el rendimiento final del cultivo (Pinilla et al., 2017).

En cuanto a su respuesta fisiológica frente al estrés hídrico, *C. moschata* presenta sensibilidad particular en sus etapas tempranas de desarrollo, especialmente durante la germinación y el establecimiento de plántulas, donde la disponibilidad de agua resulta determinante para la elongación radicular, la expansión foliar y la acumulación de biomasa. Bajo condiciones de déficit hídrico, esta especie reduce la conductancia estomática como mecanismo para limitar la pérdida de agua, lo que a su vez disminuye la tasa fotosintética y, en consecuencia, la producción de fotoasimilados y la acumulación de materia seca.



El déficit hídrico induce, además, la generación de especies reactivas de oxígeno que comprometen la integridad de membranas y pigmentos fotosintéticos, lo que activa mecanismos de defensa como la acumulación de osmolitos compatibles (prolina y azúcares solubles) y la sobreexpresión de enzimas antioxidantes que mantienen la homeostasis celular (Gupta et al., 2020). En el contexto del Caribe colombiano, donde la variabilidad climática y la susceptibilidad de los suelos a la salinización son crecientes, comprender estos mecanismos fisiológicos resulta clave para diseñar estrategias biotecnológicas que mejoren la tolerancia del cultivo en sus etapas críticas (Correa et al., 2019).

Bacterias promotoras de crecimiento vegetal

En 1978, Kloepper estableció una categoría de bacterias denominadas PGPR, sigla en inglés de *plant growth promoting rhizobacteria*, o rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Las PGPR son un tipo específico de bacterias que benefician a las plantas de diversas maneras: no solo promueven su crecimiento, sino que también fortalecen su capacidad para resistir enfermedades causadas por otros microorganismos y para tolerar condiciones de estrés abiótico, lo que las convierte en aliadas importantes para mejorar la salud y el rendimiento de los cultivos agrícolas (Chieb et al., 2023). Las bacterias del suelo pueden influir en el enraizamiento y crecimiento de las plantas de manera directa o indirecta. El género *Bacillus* forma parte de las PGPR, caracterizadas por su capacidad para estimular el desarrollo y crecimiento de las plantas mediante diversos mecanismos fisiológicos y bioquímicos (Muñoz, 2017).

Según Castaño et al. (2021), los diferentes tipos de bacterias PGPR exhiben una variedad de mecanismos, entre los que se destacan la producción de ácido indolacético, la solubilización de fosfato, el antagonismo y la producción de sideróforos, siendo estos los más comunes. Estos mecanismos parecen estar relacionados tanto con la estimulación del crecimiento de las plantas como con su capacidad para combatir agentes patógenos. Por ejemplo, el ácido indolacético es una de las auxinas más estudiadas debido a su capacidad para promover el crecimiento de las plantas y contribuir a la diferenciación y elongación del tallo y la raíz, lo que se traduce en una mayor superficie de absorción de agua y nutrientes.

Por otro lado, la solubilización de minerales como el hierro y los fosfatos por parte de las PGPR es crucial, ya que aumenta la disponibilidad de estos nutrientes en el suelo y, en consecuencia, mejora la productividad de las plantas.

De manera específica bajo condiciones de estrés hídrico, las PGPR despliegan mecanismos adicionales que se traducen en respuestas fisiológicas y agronómicas favorables para la planta. La síntesis bacteriana de ACC-deaminasa reduce los niveles de etileno asociado al estrés, lo que preserva la actividad meristemática radicular y favorece la elongación de las raíces bajo déficit hídrico. La producción de exopolisacáridos mejora la retención de agua en la rizósfera, formando una matriz que protege a las raíces de la deshidratación y estabiliza los agregados del suelo. Adicionalmente, las PGPR modulan la respuesta al estrés oxidativo inducido por el déficit hídrico mediante la activación de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa, catalasa y ascorbato peroxidasa, que neutralizan las especies reactivas de oxígeno y mantienen la homeostasis celular (Chieb et al., 2023; Lee, 2024). En conjunto, estos mecanismos se reflejan en parámetros agronómicos concretos como el aumento del contenido relativo de agua, la conservación del contenido de clorofila, el incremento de biomasa aérea y radicular, y la mejora del rendimiento del cultivo bajo condiciones limitantes.

El género *Bacillus* sp. se caracteriza por su capacidad de crecer en condiciones aeróbicas y, en algunos casos, anaeróbicas facultativas. Son bacterias Gram positivas con forma de bastón, pueden ser móviles gracias a flagelos y tienen un tamaño variable que oscila entre 0,5 y 10 μm . Prefieren un pH neutro para su crecimiento óptimo y pueden prosperar en un amplio rango de temperaturas, aunque la mayoría de las especies son mesófilas, con una temperatura de crecimiento óptima entre 30 y 45 °C. Además, destacan por su capacidad de formar endosporas, de forma oval o cilíndrica, como mecanismo de resistencia frente a diversos tipos de estrés ambiental (Villarreal et al., 2018). Varias de sus especies, tales como *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. licheniformis* y *B. pumilus*, se emplean en la solubilización de fosfatos, la producción de fitohormonas, la fijación biológica del nitrógeno y la síntesis de

sustancias que actúan como agentes antagonistas contra patógenos, lo que contribuye a mejorar la calidad de los cultivos (Acurio et al., 2020; Badía et al., 2020).

***Bacillus mycoides* como bioestimulante**

Bacillus mycoides es una bacteria Gram positiva, formadora de endosporas, perteneciente al grupo *Bacillus cereus* y ampliamente distribuida en suelos rizosféricos. Se distingue de otras especies del género por su crecimiento característico en filamentos rizoides sobre medios sólidos, patrón que refleja una alta capacidad de colonización superficial y de interacción con el sistema radicular. Esta especie ha sido aislada de la rizósfera de diversos cultivos, incluidos girasol, maíz, trigo, alfalfa y forrajeras de zonas áridas, lo que demuestra su versatilidad ecológica y su capacidad de adaptación a distintos ambientes edáficos (Ambrosini et al., 2015).

Dentro de los mecanismos de acción que sustentan su uso como bioestimulante, *B. mycoides* produce ácido indolacético, fitohormona que estimula la elongación radicular y la formación de raíces laterales, lo que se traduce en una mayor superficie de absorción de agua y nutrientes. También sintetiza sideróforos, compuestos quelantes que facilitan la captación de hierro en condiciones de baja disponibilidad, y produce ACC-deaminasa, enzima que degrada el precursor del etileno y, por consiguiente, reduce los niveles de esta hormona del estrés, preservando la actividad meristemática radicular en condiciones adversas. Adicionalmente, la producción de exopolisacáridos mejora la retención de agua en la rizósfera y estabiliza los agregados del suelo alrededor de las raíces, lo que resulta particularmente relevante bajo condiciones de déficit hídrico (Ali et al., 2022).

Bajo condiciones de estrés abiótico, *B. mycoides* induce, además, respuestas antioxidantes en la planta hospedera mediante la sobreexpresión de genes que codifican enzimas como ascorbato peroxidasa y superóxido dismutasa, lo que se traduce en una mayor capacidad de neutralizar las especies reactivas de oxígeno generadas durante el estrés y, en consecuencia, en la preservación de la integridad de membranas y pigmentos fotosintéticos. Estas respuestas se reflejan en parámetros agronómicos concretos como el aumento de



biomasa aérea y radicular, el incremento del contenido de clorofila y carotenoides, y la mejora del estado hídrico relativo de los tejidos (Ali et al., 2022; Yang et al., 2026).

La selección de *B. mycoides* sobre otras especies del género *Bacillus* (como *B. subtilis*, *B. megaterium* o *B. licheniformis*) se sustenta en varias ventajas funcionales y ecológicas: su crecimiento en filamentos rizoides le confiere una colonización más extensa de la superficie radicular; su capacidad de formar endosporas le proporciona alta viabilidad y resistencia frente a condiciones desfavorables de almacenamiento, transporte y aplicación en campo; y su versatilidad metabólica le permite ejercer efectos bioestimulantes en cultivos diversos sometidos a distintos tipos de estrés. Estas características, sumadas a su disponibilidad en la colección de bacterias promotoras del crecimiento vegetal del Grupo de Microbiología Agrícola y Ambiental de la Universidad Popular del Cesar, fundamentan su elección como organismo de estudio en la presente investigación (Beleño et al., 2022).

Complejos metálicos

Un complejo metálico se refiere a una estructura molecular en la que un átomo o ion metálico, generalmente un catión, se encuentra coordinado por un conjunto de iones o moléculas con pares de electrones libres. Estas estructuras, conocidas como compuestos de coordinación o complejos metálicos, suelen involucrar metales de transición. Las especies que rodean al metal central se denominan ligandos y pueden influir en sus propiedades químicas y físicas. Los complejos metálicos tienen diversas aplicaciones en áreas como la bioquímica, donde participan en sistemas enzimáticos; en la farmacología, especialmente en terapias de quelación como el uso de EDTA; y en el estudio de propiedades ópticas, explicadas mediante la teoría del campo cristalino (Housecroft et al., 2018).

En el ámbito agrícola, los complejos metálicos desempeñan un papel relevante en la fertilización de los cultivos, ya que mejoran la disponibilidad y movilidad de nutrientes esenciales como hierro, zinc, manganeso y cobre. Estos elementos no siempre se encuentran en formas fácilmente absorbibles por las plantas, especialmente en suelos con pH inadecuado o con presencia de elementos que interfieren en su absorción. Al formar uniones con moléculas orgánicas o inorgánicas, su movilidad y biodisponibilidad para la planta



aumentan significativamente (Jacob et al., 2022). Adicionalmente, la formación de complejos puede prevenir deficiencias nutricionales y reducir la toxicidad de ciertos metales pesados al hacerlos menos disponibles para la absorción radicular. Los quelatos metálicos son uno de los tipos más comunes utilizados en agricultura y se aplican al suelo o sobre las hojas para proporcionar nutrientes esenciales en formas fácilmente absorbibles (Gupta et al., 2024).

Desde el punto de vista fisiológico, los compuestos metálicos Cu, Zn, Fe y Mn son esenciales para el metabolismo vegetal, ya que actúan como cofactores enzimáticos y como componentes estructurales de complejos proteicos. El cobre y el zinc integran la enzima antioxidante superóxido dismutasa (Cu/Zn-SOD); además, el cobre participa en la plastocianina, clave en el transporte electrónico fotosintético, y en la citocromo c oxidasa de la respiración celular. El zinc interviene también en la síntesis de proteínas, la estabilidad de las membranas celulares y la activación de la anhidrasa carbónica, enzima fundamental para la fijación de CO₂. Por su parte, el hierro es indispensable para la síntesis de clorofila, el transporte electrónico fotosintético y la actividad de la catalasa, que descompone el peróxido de hidrógeno generado durante el estrés oxidativo. Finalmente, el manganeso actúa como cofactor de la Mn-SOD y participa en el complejo liberador de oxígeno del fotosistema II, responsable de la fotólisis del agua durante la fotosíntesis (Gupta et al., 2024; Lilay et al., 2024). Cabe precisar que, si bien el hierro cumple un rol fisiológico relevante y se describe aquí con fines de contextualización teórica, este micronutriente no formó parte del diseño experimental de la presente investigación, tal como se detalla en el capítulo de Metodología.

Bajo condiciones de estrés hídrico, estas funciones adquieren especial relevancia. El déficit de agua induce la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que comprometen la integridad de membranas, proteínas y pigmentos fotosintéticos, por lo que la disponibilidad de Cu, Zn y Mn resulta determinante para sostener la respuesta antioxidante de la planta mediante la activación de enzimas como SOD, catalasa y ascorbato peroxidasa. Además, estos compuestos metálicos contribuyen al mantenimiento de la actividad fotosintética, a la síntesis de osmolitos compatibles y a la preservación del estado hídrico

relativo de los tejidos, mecanismos que en conjunto determinan la tolerancia agronómica del cultivo frente al déficit hídrico (Gupta et al., 2024).

Marco legal

El desarrollo de la presente investigación se enmarca dentro de un conjunto de disposiciones constitucionales, legales y reglamentarias colombianas relacionadas con el uso de insumos agropecuarios, la bioseguridad de organismos biológicos, la protección ambiental y la promoción de la innovación agrícola.

En primer lugar, la Constitución Política de Colombia (1991), en sus artículos 79 y 80, reconoce el derecho de todas las personas a gozar de un ambiente sano y establece el deber del Estado de planificar el manejo y aprovechamiento de los recursos naturales para garantizar su desarrollo sostenible, su conservación, restauración o sustitución. Este mandato constitucional constituye el fundamento de toda la normativa ambiental y agropecuaria posterior que se relaciona con el presente estudio.

En desarrollo de este mandato, la Ley 99 de 1993 creó el Ministerio del Medio Ambiente (hoy Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible) y organizó el Sistema Nacional Ambiental (SINA), estableciendo los principios generales que orientan la política ambiental colombiana, entre ellos el desarrollo sostenible y la protección de la biodiversidad como patrimonio nacional. De manera complementaria, el Decreto-Ley 2811 de 1974, o Código Nacional de Recursos Naturales Renovables, constituye el marco general para la protección del ambiente y el uso racional de los recursos naturales en el territorio colombiano, siendo el antecedente normativo sobre el cual se han construido las regulaciones ambientales posteriores.

En el ámbito internacional, Colombia adoptó la Ley 165 de 1994, mediante la cual aprobó el Convenio sobre la Diversidad Biológica suscrito en Río de Janeiro en 1992. Este convenio compromete al país con la conservación de la diversidad biológica, el uso sostenible de sus componentes y la participación justa y equitativa en los beneficios derivados del uso de recursos genéticos, lo cual resulta relevante para investigaciones que emplean microorganismos y material vegetal con fines de bioestimulación agrícola.

En cuanto a la bioseguridad de organismos biológicos empleados en la agricultura, la Ley 740 de 2002 aprobó el Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología, comprometiendo al país a regular el desarrollo, la manipulación, el transporte y la utilización de organismos que puedan representar riesgos para la diversidad biológica y la salud humana. En concordancia con este compromiso internacional, el Decreto 4525 de 2005 estableció el marco regulatorio nacional para los Organismos Vivos Modificados (OVM) y creó el Comité Técnico Nacional de Bioseguridad (CTNBio), encargado de evaluar los riesgos asociados al uso de este tipo de organismos con fines agrícolas, pecuarios y agroindustriales. Este decreto fue posteriormente compilado, junto con la mayoría de la normatividad agropecuaria vigente, en el Decreto 1071 de 2015, Decreto Único Reglamentario del Sector Administrativo Agropecuario, Pesquero y de Desarrollo Rural.

Respecto a la regulación específica de bioinsumos microbianos, como el empleado en esta investigación, la Resolución ICA 068370 de 2020 estableció los requisitos para el registro de productores, envasadores, importadores y departamentos técnicos de ensayos de eficacia agronómica de bioinsumos para uso agrícola en Colombia. Esta resolución define un bioinsumo como aquel producto elaborado a partir de microorganismos vivos, macroorganismos o productos de origen biológico, empleado con fines de nutrición vegetal, manejo integrado de plagas o mejoramiento de las características biológicas del suelo, categoría dentro de la cual se enmarcan los inoculantes biológicos como *Bacillus mycoides*, empleado en el presente estudio. Dicha resolución garantiza que los bioinsumos registrados en el país cumplan con estándares de calidad, eficacia y seguridad, tanto para la salud pública como para el medio ambiente.

Finalmente, en el plano de la política pública sectorial, la Ley 1876 de 2017 creó el Sistema Nacional de Innovación Agropecuaria (SNIA), orientado a articular la investigación, la transferencia tecnológica y la extensión agropecuaria como herramientas para mejorar la productividad, la competitividad y la sostenibilidad del sector agropecuario colombiano. Más recientemente, la Ley 2183 de 2022 constituyó el Sistema Nacional de Insumos Agropecuarios, estableció la Política Nacional de Insumos Agropecuarios y creó el Fondo de



Acceso a los Insumos Agropecuarios, con el propósito de mejorar el acceso, uso y control de los insumos empleados en la producción agropecuaria del país, dentro de los cuales se incluyen los complejos metálicos y los bioestimulantes microbianos evaluados en esta investigación.

En conjunto, este marco normativo respalda la pertinencia y legalidad del uso de compuestos metálicos y de la bacteria *Bacillus mycoides* como bioestimulante en *Cucurbita moschata*, enmarcando la investigación dentro de los principios de sostenibilidad ambiental, bioseguridad e innovación agropecuaria que rigen en Colombia.

Metodología

Enfoque y tipo de estudio

El estudio correspondió a un enfoque cuantitativo, de tipo explicativo, con diseño experimental, dado que se pretendió medir y comparar el efecto del potencial bioestimulante bajo condiciones de estrés hídrico en *Cucurbita moschata*. Es importante precisar que el diseño experimental se desarrolló en cuatro etapas secuenciales (germinación, hidroponía y estrés hídrico en sus dos partes), cada una constituyendo un ensayo independiente con un nuevo lote de semillas preparado específicamente para esa fase, y no un seguimiento físico continuo de las mismas plántulas individuales a lo largo de todo el proceso. Esta precisión se retoma con mayor detalle en el apartado de Métodos analíticos.

Universo, población y muestra

- **Universo:** todas las plantas de *Cucurbita moschata* cultivadas bajo condiciones agrícolas susceptibles de recibir tratamientos con compuestos metálicos y bioestimulantes microbianos.
- **Población:** conjunto de semillas y plántulas de *Cucurbita moschata* del cultivar seleccionado, obtenidas de un mismo lote de producción, que cumplieron los criterios de calidad fitosanitaria y viabilidad germinativa establecidos para el experimento.
- **Unidad experimental:** correspondió, según la fase del estudio, a un grupo de 15 semillas dispuestas en una bandeja plástica (Etapa 1), a una plántula en sistema hidropónico (Etapa 2) o a un recipiente con sustrato estéril (Etapa 3, partes 1 y 2). Cada unidad experimental recibió un tratamiento específico y constituyó la unidad mínima de análisis estadístico.
- **Muestra:** conjunto de unidades experimentales empleadas en el estudio. El tamaño muestral correspondió a tres repeticiones por tratamiento, lo que dio lugar a un total de 54 unidades experimentales (18 tratamientos × 3 repeticiones) en cada etapa. Dado que cada unidad experimental de la Etapa 1 contuvo 15 semillas, el número total

de semillas evaluadas en la fase de germinación fue de aproximadamente 810, distribuidas equitativamente entre los grupos experimentales, incluido el control.

Criterios de inclusión y exclusión

Para cada tratamiento se seleccionaron 45 semillas de *Cucurbita moschata*, distribuidas en tres repeticiones de 15 semillas cada una, con el fin de evaluar la germinación adecuada y garantizar la validez estadística del análisis. Se excluyeron aquellas semillas que presentaron condiciones deficientes, daño mecánico, fracturas o cualquier defecto visible, con el propósito de garantizar la confiabilidad de los resultados experimentales.

Variables

Con el propósito de garantizar coherencia entre lo planteado en los objetivos, lo ejecutado en la metodología y lo reportado en los resultados, las variables del estudio se operacionalizaron según se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2 Operacionalización de las variables del estudio

Tipo de variable	Variable	Definición operacional	Unidad de medida
Independiente	Concentración de complejos metálicos	Niveles de Cu, Zn y Mn aplicados en solución ($\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1, 2, 5, 10, 20 y 40 $\mu\text{mol/L}$), más un control sin aplicación	$\mu\text{mol/L}$
Independiente	Concentración de ácido nicotínico (AN)	Niveles de AN aplicados en solución, en las mismas concentraciones que los complejos metálicos, como tratamiento comparativo	$\mu\text{mol/L}$
Independiente	Inoculación con <i>Bacillus mycoides</i>	Presencia (+B) o ausencia (control) de inóculo bacteriano aplicado al sustrato	Presencia/ausencia
Dependiente	Porcentaje de germinación	Número de semillas germinadas respecto al total sembrado por unidad	%

		experimental, evaluado a los 5 días	
Dependiente	Longitud de raíz	Distancia desde el cuello de la plántula hasta el ápice radicular, medida con regla milimetrada	cm
Dependiente	Contenido de clorofila a	Concentración del pigmento cuantificada por espectrofotometría	µg/g de tejido fresco
Dependiente	Contenido de clorofila b	Concentración del pigmento cuantificada por espectrofotometría	µg/g de tejido fresco
Dependiente	Contenido de carotenoides totales	Concentración del pigmento cuantificada por espectrofotometría	µg/g de tejido fresco
Interviniente/control	Condiciones ambientales	Temperatura, fotoperiodo y nivel de riego del laboratorio	°C, h luz/oscuridad, mL
Interviniente/control	Manejo de reactivos y asepsia	de Manipulación estéril de complejos metálicos, medios de cultivo y muestras	

Nota. Elaborada por los autores con base en las variables definidas para el diseño experimental del estudio.

Delimitaciones geográficas y temporales

La investigación se llevó a cabo en la ciudad de Valledupar, Cesar, específicamente en los laboratorios de la Universidad Popular del Cesar. El tiempo de ejecución del estudio fue de 6 meses, de acuerdo con lo establecido en el cronograma de actividades.

Consideraciones éticas

La presente investigación se desarrolló conforme a los principios de integridad científica, rigor metodológico y respeto por la vida y el entorno, garantizando la calidad en la obtención, el procesamiento y la interpretación de los datos. Así mismo, se dio cumplimiento

a las normas de bioseguridad y a las buenas prácticas de laboratorio, con el propósito de prevenir riesgos para los investigadores, las muestras biológicas y el medio ambiente.

Técnicas y procedimientos experimentales

Preparación de la muestra

En primer lugar, se seleccionaron semillas que presentaron buen estado físico y ausencia de daños visibles. Posteriormente, se realizó un proceso de desinfección superficial mediante el uso de una solución de hipoclorito de sodio al 1 %, durante 5 minutos. Una vez desinfectadas, las semillas se enjuagaron con agua destilada estéril y se hidrataron en este mismo medio durante un periodo de 4 horas.

Para el desarrollo del estudio se utilizó la cepa *Bacillus mycoides* str. BGSC1-DN3, obtenida de la colección de bacterias promotoras de crecimiento vegetal del laboratorio del Grupo de Microbiología Agrícola y Ambiental de la Universidad Popular del Cesar (Beleño et al., 2022). Para su activación, se empleó una cepa pura, la cual fue inoculada en caldo nutritivo e incubada a 37 °C durante 24-48 horas con agitación constante. Finalizado el periodo de incubación, se verificó la identidad bacteriana mediante tinción de Gram, con el fin de confirmar sus características morfológicas. Una vez comprobada su pureza, se realizó el aislamiento en agar nutritivo mediante siembra por agotamiento, seguido de incubación a 37 °C durante 24-48 horas.

A partir del cultivo obtenido, se preparó un inóculo de *B. mycoides* a una concentración de 1×10^8 UFC mL⁻¹, ajustada mediante espectrofotometría hasta alcanzar una absorbancia de 1 a una longitud de onda de 600 nm (Beleño et al., 2022).

Métodos analíticos

Etapas 1. En esta etapa inicial, las semillas de auyama se sometieron a germinación bajo diferentes concentraciones de complejos metálicos de cobre (II), zinc (II) y manganeso (II), y de manera comparativa, bajo diferentes concentraciones de ácido nicotínico (¼, ½, 1, 2, 5, 10, 20 y 40 µmol/L), además de un grupo control tratado únicamente con agua destilada estéril. La inclusión del ácido nicotínico como tratamiento independiente, pese a no ser un



micronutriente metálico, se justificó por su papel como precursor bioquímico de coenzimas asociadas a procesos de oxidación-reducción y metabolismo energético (NAD^+/NADH), lo que permitió compararlo frente a los complejos metálicos evaluados y contrastar dos vías fisiológicas distintas de posible estimulación de la germinación. Este control permitió, además, comparar el efecto de las diferentes concentraciones de complejos metálicos sobre la germinación de las semillas. Previamente, las semillas se desinfectaron con solución de hipoclorito y se hidrataron durante 4 horas en cada una de las concentraciones evaluadas.

Posteriormente, las semillas se colocaron en bandejas plásticas con 10 mL de agua destilada estéril y se mantuvieron en condiciones de oscuridad durante 5 días. Cada tratamiento contó con tres repeticiones, compuestas por 15 semillas cada una. Durante este periodo, se realizó un seguimiento diario del proceso de germinación a las 8:00 a. m., registrando el número de semillas germinadas en cada unidad experimental. Finalizado el tiempo de incubación, se analizó el porcentaje de germinación, se midió la longitud de la raíz y se realizó el análisis estadístico correspondiente.

Etapas 2. Esta segunda etapa constituyó un ensayo de germinación e hidroponía independiente del descrito en la Etapa 1, para el cual se preparó un nuevo lote de semillas siguiendo el mismo protocolo de desinfección y de hidratación en las diferentes soluciones descrito anteriormente, con un periodo de hidratación de 4 horas. Las semillas así preparadas se incubaron en bandejas plásticas, en condiciones de oscuridad, durante 4 días. Aquellas semillas que germinaron satisfactoriamente y presentaron características morfológicas adecuadas fueron transferidas a sistemas hidropónicos con solución nutritiva de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950), donde las plántulas se mantuvieron durante 5 días en una incubadora con luz LED a 26 ± 1 °C. Es importante precisar que esta germinación y el posterior traslado a hidroponía correspondieron a un ensayo experimental nuevo e independiente del realizado en la Etapa 1, y no a la continuación física de las mismas plántulas evaluadas en la etapa anterior; esta distinción metodológica se hace explícita para evitar la impresión de continuidad biológica ininterrumpida entre etapas, que podría sugerirse en una lectura superficial del Resumen o de la Introducción. Al finalizar este periodo, se evaluó la longitud

de raíz. Este sistema hidropónico permitió el crecimiento vegetal sin el uso de suelo (Treftz & Omaye, 2016).

Etapas 3-1 (complejos metálicos sin inoculación bacteriana, bajo estrés hídrico).

Al igual que en las etapas anteriores, esta fase correspondió a un nuevo ensayo experimental, para el cual las semillas se desinfectaron e hidrataron nuevamente durante 4 horas en las diferentes concentraciones de cobre, zinc, manganeso y ácido nicotínico, más un grupo control. Las semillas germinadas fueron trasplantadas a recipientes plásticos con 800 g de sustrato compuesto por arena y vermiculita en proporción 2:1 (v/v), previamente esterilizado en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

La condición de estrés hídrico se estableció mediante la suspensión del riego hasta que las plantas alcanzaron un estado de marchitez temporal, caracterizado por la pérdida reversible de la turgencia foliar, sin presentar daños permanentes en los tejidos. Este criterio fisiológico se empleó como indicador visual del momento en que las plantas requerían el suministro de agua para evitar la aparición de marchitez permanente y su consecuente muerte, y se verificó operacionalmente mediante la observación diaria del ángulo de inserción foliar y la pérdida de firmeza al tacto en las hojas más jóvenes, realizada siempre por el mismo investigador y a la misma hora del día (8:00 a. m.), con el fin de reducir la subjetividad de la evaluación entre repeticiones. Se reconoce, no obstante, que este criterio fenotípico no sustituye una cuantificación instrumental directa del estado hídrico del sustrato, como el potencial hídrico o el porcentaje exacto de capacidad de campo; esta limitación se retoma de manera explícita en el apartado de Recomendaciones, donde se propone la incorporación de un protocolo gravimétrico o de medición del potencial hídrico mediante cámara de presión tipo Scholander para estudios futuros que busquen mayor estandarización y replicabilidad técnica. Una vez alcanzado el estado de marchitez temporal, se aplicaron 50 mL de solución nutritiva de Hoagland por tratamiento mediante un sistema de absorción capilar, permitiendo mantener el aporte de nutrientes sin eliminar completamente la condición de estrés hídrico impuesta.

Posteriormente, el contenido de clorofila a, clorofila b y carotenoides se determinó siguiendo la metodología propuesta por Lichtenthaler (1987). Los pigmentos fotosintéticos fueron extraídos utilizando etanol al 95 % y la absorbancia de los extractos se midió en un espectrofotómetro a 664, 649 y 470 nm, correspondientes a las longitudes de onda empleadas para la cuantificación de clorofila a, clorofila b y carotenoides, respectivamente. Las concentraciones de los pigmentos se calcularon mediante las siguientes ecuaciones, propuestas por Lichtenthaler (1987), y los resultados se expresaron en μg de pigmento por gramo de tejido foliar fresco ($\mu\text{g g}^{-1}$):

Clorofila a (C_a):

$$C_a = 13.36 A_{664} - 5.19 A_{649}$$

Clorofila b (C_b):

$$C_b = 27.43 A_{649} - 8.12 A_{664}$$

Clorofila total (C_{a+b}):

$$C_{a+b} = 5.24 A_{664} + 22.24 A_{649}$$

Carotenoides totales (C_{x+c}):

$$C_{x+c} = \frac{1000 A_{470} - 2.13 C_a - 97.64 C_b}{209}$$

Donde:

- A_{664} : absorbancia del extracto etanólico medida a una longitud de onda de 664 nm.
- A_{649} : absorbancia del extracto etanólico medida a una longitud de onda de 649 nm.
- A_{470} : absorbancia del extracto etanólico medida a una longitud de onda de 470 nm.
- C_a : concentración de clorofila a, expresada en $\mu\text{g mL}^{-1}$.
- C_b : concentración de clorofila b, expresada en $\mu\text{g mL}^{-1}$.
- C_{a+b} : concentración de clorofila total, expresada en $\mu\text{g mL}^{-1}$.

- C_{x+c} : concentración de carotenoides totales (xantofilas + carotenos), expresada en $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Al finalizar esta etapa, se seleccionaron cinco plantas por tratamiento para evaluar la longitud de raíz y el contenido de clorofila a, clorofila b y carotenoides mediante espectrofotometría, siguiendo el protocolo descrito anteriormente. Esta etapa funcionó como grupo de referencia o línea base, para contrastar el efecto exclusivo de los complejos metálicos, sin la influencia de la bacteria, frente a los resultados que se obtendrían en la Etapa 3-2.

Etapa 3-2 (complejos metálicos combinados con inoculación de *Bacillus mycoides*, bajo estrés hídrico). Al igual que en la Etapa 3-1, este ensayo correspondió a un nuevo lote de semillas, las cuales se desinfectaron e hidrataron en las soluciones correspondientes de cobre, zinc, manganeso y ácido nicotínico, más un grupo control. Posteriormente, se realizó la inoculación con la cepa *Bacillus mycoides* str. BGSC1-DN3 mediante aplicación directa de 8 mL de la suspensión bacteriana (1×10^8 UFC mL^{-1}) sobre el sustrato (Cubillos-Hinojosa et al., 2022). Para evaluar el efecto combinado de la inoculación y de los complejos metálicos sobre el desarrollo de las plantas, se conformaron seis tratamientos bajo estrés hídrico: Cu+B, Zn+B, Mn+B, AN+B, Ctr+B (control inoculado) y Ctr (control sin inocular), este último incluido como referencia compartida con la Etapa 3-1. Esta disposición permitió comparar los tratamientos generados por la combinación de los compuestos metálicos y la presencia de *B. mycoides*, de acuerdo con el diseño factorial establecido para el estudio.

El estrés hídrico en esta etapa se indujo y verificó siguiendo el mismo protocolo descrito en la Etapa 3-1, es decir, mediante la suspensión del riego hasta observar el estado de marchitez temporal, con las mismas verificaciones operacionales descritas previamente para reducir la subjetividad de la evaluación. El contenido de clorofila a, clorofila b y carotenoides se cuantificó mediante el mismo protocolo espectrofotométrico y las mismas ecuaciones de Lichtenthaler (1987) presentadas en la Etapa 3-1. Los datos de clorofilas y carotenoides obtenidos se analizaron mediante el ANOVA descrito en el apartado de análisis



estadístico, y su comparación con los resultados de la Etapa 3-1 permitió determinar si existió un efecto sinérgico, aditivo o antagónico entre la inoculación con *B. mycoides* y la aplicación de complejos metálicos.

Diseño experimental

El estudio se desarrolló bajo un diseño experimental factorial completamente al azar, en el cual se evaluaron dos factores principales: (i) la concentración de complejos metálicos de cobre, zinc y manganeso, y de ácido nicotínico como tratamiento comparativo, con nueve niveles correspondientes a $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1, 2, 5, 10, 20 y 40 $\mu\text{mol/L}$, más un grupo control sin aplicación; y (ii) la inoculación con *Bacillus mycoides* a todos los tratamientos descritos. La combinación de los niveles de ambos factores dio lugar a 18 tratamientos, cada uno con tres repeticiones, para un total de 54 unidades experimentales por etapa. La asignación de los tratamientos a las unidades experimentales se realizó de forma completamente aleatoria con el fin de minimizar el efecto de variables no controladas.

Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA) factorial, con el propósito de determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software Minitab® versión 20.4. El ANOVA permitió evaluar tanto los efectos individuales de los factores en estudio (concentraciones de compuestos metálicos e inoculación bacteriana) como su interacción sobre las variables de porcentaje de germinación, longitud de raíz, contenido de clorofila y carotenoides. Cuando se evidenciaron diferencias significativas, se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey para identificar las diferencias entre tratamientos.

Resultados

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos durante el desarrollo experimental de la investigación, organizados en función de los tres objetivos específicos planteados: (1) el efecto de diferentes concentraciones de compuestos metálicos sobre la germinación y el crecimiento inicial de *Cucurbita moschata*; (2) el efecto de la inoculación con *Bacillus mycoides* sobre el crecimiento y las respuestas fisiológicas de la planta bajo condiciones de estrés hídrico; y (3) el efecto combinado de ambos factores sobre la tolerancia de la planta a dicho estrés. Cada apartado integra los análisis estadísticos correspondientes, mediante análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación múltiple de Tukey, con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$, junto con su interpretación biológica y agronómica. La presentación de los datos combina tablas descriptivas, figuras estadísticas y párrafos de análisis que buscan dar cuenta, de manera integral, del comportamiento de cada variable frente a los tratamientos evaluados.

1. Etapa: Ensayos de germinación

La primera fase experimental buscó determinar si la aplicación de complejos metálicos de cobre, zinc y manganeso, evaluados de manera comparativa frente al ácido nicotínico, modificaba el porcentaje de germinación y la longitud de raíz de las plántulas de auyama. Para ello, se sometieron las semillas a ocho concentraciones crecientes de cada compuesto ($\frac{1}{4}$ a 40 $\mu\text{mol/L}$) más un grupo control, con tres repeticiones de 15 semillas por tratamiento. Esta etapa constituye el punto de partida del análisis, ya que permite observar la respuesta más temprana de la planta frente a la disponibilidad de compuestos metálicos, antes de que intervengan otros factores como el estrés hídrico o la inoculación bacteriana, los cuales se incorporan en etapas posteriores del diseño experimental.

1.1. Ensayo de Germinación con aplicación de Ácido Nicotínico

La Tabla 3 presenta las medias del porcentaje de germinación de *Cucurbita moschata* bajo diferentes concentraciones de ácido nicotínico. El mayor resultado se registró en el tratamiento AN1 (95,5 %), mientras que el menor correspondió al tratamiento AN10 (84,4 %).

En términos generales, todos los tratamientos presentaron medias de germinación similares. El análisis de varianza indicó que las diferencias entre las medias no fueron estadísticamente significativas ($F = 1,58$; $p = 0,199$; $p > 0,05$). La prueba de comparación de medias agrupó todos los tratamientos en una única categoría (A), lo que confirma que las concentraciones de ácido nicotínico evaluadas ($\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1, 2, 5, 10, 20 y 40 $\mu\text{mol/L}$) no generaron diferencias significativas entre sí.

Tabla 3 *Porcentaje de germinación (media $\pm$ desviación estándar) de Cucurbita moschata bajo diferentes concentraciones de ácido nicotínico, zinc, manganeso y cobre*

Complejo	Tratamiento	PG (%) $\pm$ DE	Agrupación	Valor F	Valor p
Ácido nicotínico (AN)	AN $\frac{1}{4}$	88,8 $\pm$ 3,8	A	1,58	0,199
	AN $\frac{1}{2}$	91,1 $\pm$ 3,8	A		
	AN1	95,5 $\pm$ 3,8	A		
	AN2	86,6 $\pm$ 6,6	A		
	AN5	88,8 $\pm$ 3,8	A		
	AN10	84,4 $\pm$ 3,8	A		
	AN20	86,6 $\pm$ 6,6	A		
	AN40	86,6 $\pm$ 6,6	A		
	Control	88,8 $\pm$ 3,8	A		
Zinc (Zn)	Zn $\frac{1}{4}$	93,3 $\pm$ 6,6	A	1,30	0,303
	Zn $\frac{1}{2}$	93,3 $\pm$ 0,0	A		
	Zn1	88,8 $\pm$ 3,9	A		
	Zn2	88,8 $\pm$ 3,8	A		
	Zn5	88,8 $\pm$ 3,8	A		
	Zn10	95,5 $\pm$ 3,8	A		
	Zn20	86,6 $\pm$ 6,6	A		
	Zn40	88,8 $\pm$ 3,8	A		
	Control	86,6 $\pm$ 6,6	A		
Manganeso (Mn)	Mn $\frac{1}{4}$	91,1 $\pm$ 3,8	A	0,56	0,795
	Mn $\frac{1}{2}$	91,1 $\pm$ 7,7	A		
	Mn1	95,5 $\pm$ 3,8	A		
	Mn2	91,1 $\pm$ 3,8	A		
	Mn5	93,3 $\pm$ 6,6	A		



	Mn10	86,6 ± 6,6	A		
	Mn20	93,3 ± 0,0	A		
	Mn40	91,1 ± 10,1	A		
	Control	93,3 ± 0,0	A		
Cobre (Cu)	Cu¼	82,0 ± 3,8	A	1,42	0,253
	Cu½	80,0 ± 6,6	A		
	Cu1	91,1 ± 3,8	A		
	Cu2	86,6 ± 6,6	A		
	Cu5	86,6 ± 0,0	A		
	Cu10	86,6 ± 13,3	A		
	Cu20	84,4 ± 7,7	A		
	Cu40	77,7 ± 3,8	A		
	Control	88,8 ± 3,8	A		

Nota. PG = porcentaje de germinación; AN = ácido nicotínico; Zn = zinc; Mn = manganeso; Cu = cobre; DE = desviación estándar. Los subíndices numéricos y fraccionarios junto a cada abreviatura (por ejemplo, AN¼, AN½, AN1, AN2, AN5, AN10, AN20, AN40) indican la concentración del complejo metálico o del ácido nicotínico aplicada, expresada en µmol/L. Cada complejo se evaluó como un ensayo independiente frente a su propio grupo control (n = 15 semillas por unidad experimental, 3 repeticiones por tratamiento); el valor F y el valor p corresponden al ANOVA realizado dentro de cada complejo. Promedios con letras distintas dentro de un mismo complejo indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Los resultados (Tabla 4) evidencian que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de ácido nicotínico ($F = 0,61$; $p = 0,762$), por lo que no se rechazó la hipótesis nula de igualdad de medias planteada para esta variable. En términos prácticos, esto significa que ninguna de las ocho concentraciones evaluadas modificó de manera consistente la capacidad de la plántula para desarrollar su sistema radicular durante la fase de germinación, un hallazgo que resulta coherente con el papel indirecto que este compuesto orgánico desempeña en el metabolismo vegetal, en comparación con el papel más directo que cumplen los compuestos metálicos como cofactores enzimáticos.

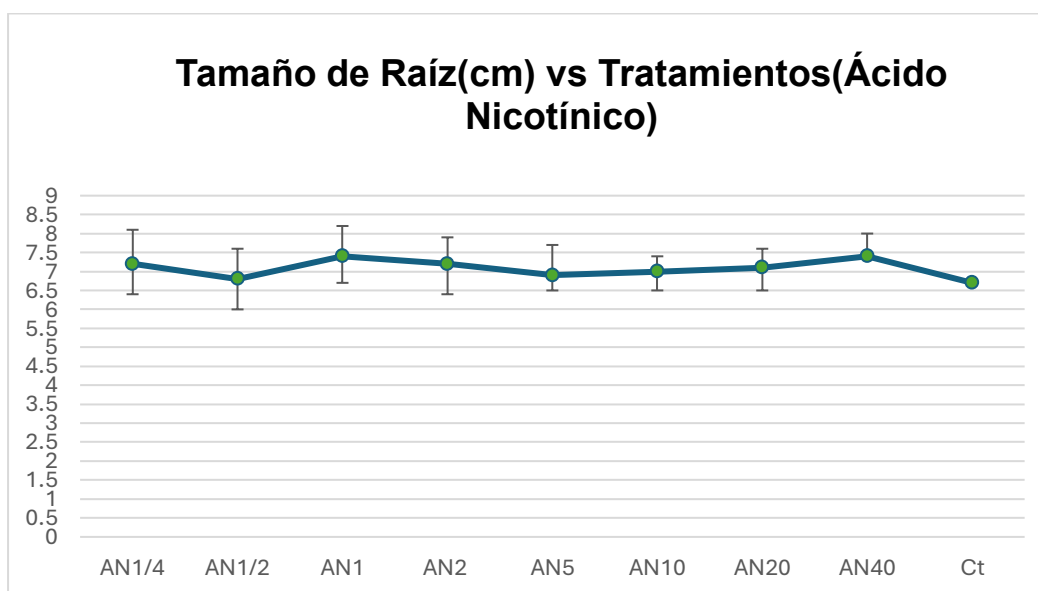
Tabla 4 Longitud de raíz (media $\pm$ desviación estándar, en cm) de *Cucurbita moschata* en la etapa de germinación, bajo diferentes concentraciones de ácido nicotínico, zinc, manganeso y cobre

Complejo	Tratamiento	Longitud de raíz (cm) $\pm$ DE	Agrupación	Valor F	Valor p
Ácido nicotínico (AN)	AN $\frac{1}{4}$	7,2 $\pm$ 0,9	A	0,61	0,762
	AN $\frac{1}{2}$	6,8 $\pm$ 0,8	A		
	AN1	7,4 $\pm$ 0,8	A		
	AN2	7,2 $\pm$ 0,7	A		
	AN5	6,9 $\pm$ 0,8	A		
	AN10	7,0 $\pm$ 0,4	A		
	AN20	7,1 $\pm$ 0,5	A		
	AN40	7,4 $\pm$ 0,6	A		
	Control	6,7 $\pm$ 0,07	A		
Zinc (Zn)	Zn $\frac{1}{4}$	7,0 $\pm$ 0,6	A	0,93	0,507
	Zn $\frac{1}{2}$	6,8 $\pm$ 0,5	A		
	Zn1	7,8 $\pm$ 0,7	A		
	Zn2	7,8 $\pm$ 1,0	A		
	Zn5	7,4 $\pm$ 0,4	A		
	Zn10	7,6 $\pm$ 0,6	A		
	Zn20	7,2 $\pm$ 1,4	A		
	Zn40	7,2 $\pm$ 0,7	A		
	Control	7,6 $\pm$ 0,4	A		
Manganeso (Mn)	Mn $\frac{1}{4}$	7,7 $\pm$ 0,3	A	5,51	< 0,001
	Mn $\frac{1}{2}$	6,7 $\pm$ 0,5	BC		
	Mn1	7,7 $\pm$ 0,6	AB		
	Mn2	6,3 $\pm$ 0,3	C		
	Mn5	7,7 $\pm$ 0,5	AB		
	Mn10	7,1 $\pm$ 0,3	ABC		
	Mn20	7,4 $\pm$ 0,4	AB		
	Mn40	7,7 $\pm$ 0,5	A		

	Control	7,6 ± 0,4	AB		
Cobre (Cu)	Cu $\frac{1}{4}$	6,5 ± 0,9	A	1,92	0,086
	Cu $\frac{1}{2}$	6,9 ± 0,4	A		
	Cu1	6,5 ± 0,6	A		
	Cu2	7,6 ± 1,0	A		
	Cu5	6,6 ± 1,0	A		
	Cu10	7,1 ± 0,8	A		
	Cu20	6,3 ± 0,5	A		
	Cu40	7,2 ± 0,6	A		
	Control	7,5 ± 0,3	A		

Nota. DE = desviación estándar. Cada complejo se evaluó como un ensayo independiente frente a su propio grupo control (n = 5 plántulas por unidad experimental, 3 repeticiones por tratamiento); el valor F y el valor p corresponden al ANOVA realizado dentro de cada complejo. Promedios con letras distintas dentro de un mismo complejo indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$). Abreviaturas como en la Tabla 3.

Figura 1 Efecto de diferentes concentraciones de ácido nicotínico sobre la longitud de la raíz (cm) de *Cucurbita moschata*



Nota. Elaborada por los autores a partir de los datos presentados en la Tabla 4.

La Figura 1 muestra que las medias oscilaron entre aproximadamente 6,7 y 7,5 cm, reflejando una respuesta similar entre los tratamientos evaluados. El tratamiento AN1 presentó la mayor longitud media de la raíz, seguido por AN40, mientras que el tratamiento

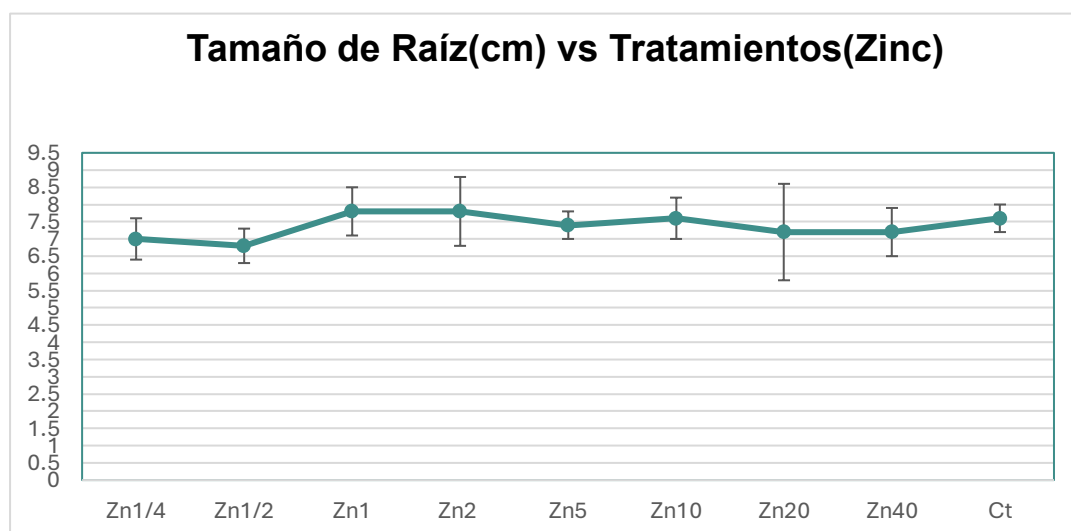
control (Ct) y AN $\frac{1}{2}$ registraron las menores medias. No obstante, las barras de error se superponen entre la mayoría de los tratamientos, lo que sugiere que hay una respuesta consistente en la longitud de la raíz entre los tratamientos.

1.2. Ensayo de Germinación con aplicación de Zinc

La Tabla 3 presenta las medias del porcentaje de germinación de Cucurbita moschata bajo diferentes concentraciones del complejo metálico zinc. Se observó que el tratamiento Zn10 registró la mayor media de germinación (95,5 %), seguido por los tratamientos Zn $\frac{1}{4}$ y Zn $\frac{1}{2}$, ambos con una media de 93,3 %. Las medias del porcentaje de germinación fueron similares entre los tratamientos evaluados. El análisis de varianza no mostró diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de zinc ($F = 1,30$; $p = 0,303$), lo que indica que las concentraciones evaluadas no ejercieron un efecto significativo sobre el porcentaje de germinación de las semillas de auyama.

El análisis de varianza expuesto en la Tabla 4 confirma que los tratamientos no ejercieron un efecto significativo sobre la longitud de raíz de Cucurbita moschata ($F = 0,93$; $p = 0,507$). Debido a que el valor de p fue superior a 0,05, se aceptó la hipótesis nula de igualdad de medias, concluyéndose que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados.

Figura 2 Efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre la longitud de la raíz (cm) de Cucurbita moschata



Nota. Elaborada por los autores a partir de los datos presentados en la Tabla 4.

La Figura 2 permite apreciar que el tratamiento Zn2 presentó la media promedio más alta en la longitud de raíz, cercana a 7,9 cm. Los tratamientos Zn1 y Zn10 también presentaron valores altos, y el resultado menor lo obtuvo el tratamiento Zn½. Sin embargo, los intervalos de confianza de todos los tratamientos se superponen ampliamente, lo que indica que las diferencias observadas entre las medias no son suficientemente consistentes para atribuir las al efecto de las diferentes concentraciones del complejo.

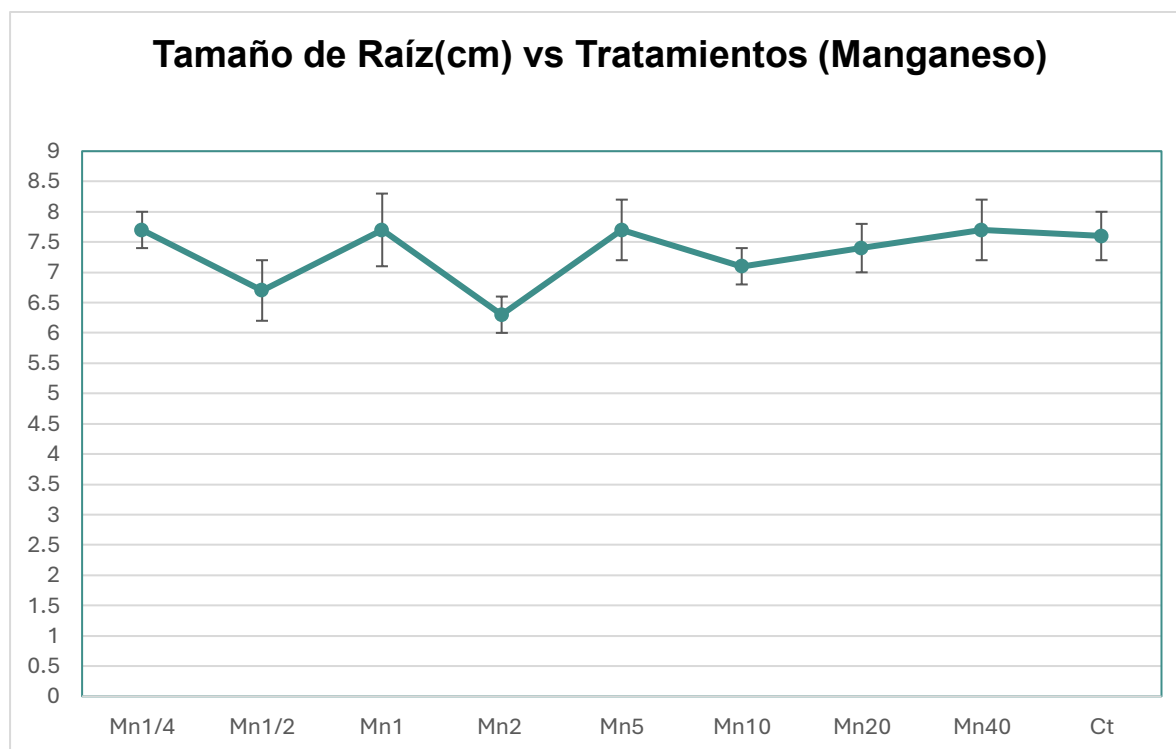
1.3. Ensayo de Germinación con aplicación de Manganese

La Tabla 3 presenta los porcentajes de germinación obtenidos para las semillas de Cucurbita moschata sometidas a diferentes concentraciones del complejo de manganeso. Los valores registrados oscilaron entre 86,6 % y 95,5 %, evidenciando variaciones en la respuesta germinativa de las semillas según el tratamiento aplicado. El tratamiento Mn1 presentó el mayor porcentaje de germinación, con una media de 95,5 %, seguido de Mn5, Mn20 y el tratamiento control, con 93,3 %. Por su parte, el menor porcentaje de germinación correspondió al tratamiento Mn10, con 86,6 %. A pesar de las variaciones observadas en los valores medios, el análisis estadístico no evidenció diferencias significativas entre los tratamientos ($F = 0,56$; $p = 0,795$). Asimismo, todos los tratamientos fueron clasificados dentro del grupo estadístico A mediante la prueba de Tukey, lo que indica que las diferencias observadas en los porcentajes de germinación no fueron estadísticamente significativas al nivel de confianza establecido ($P \leq 0,05$). Por tanto, bajo las condiciones evaluadas, las diferentes concentraciones de manganeso no generaron un efecto significativo sobre el porcentaje de germinación de C. moschata.

La Tabla 4 presenta las medias de longitud de raíz obtenidas para las semillas de Cucurbita moschata sometidas a diferentes concentraciones de manganeso. Los valores oscilaron entre 6,3 y 7,7 cm. Las mayores longitudes promedio se registraron en los tratamientos Mn¼, Mn1, Mn5 y Mn40, con valores de 7,7 cm, mientras que el tratamiento Mn2

presentó la menor longitud radicular, con una media de 6,3 cm. El análisis de varianza evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados ($F = 5,51$; $p = 0,000$), indicando que al menos una de las concentraciones de manganeso produjo un efecto diferente sobre el crecimiento radicular de *C. moschata*.

Figura 3 Efecto de diferentes concentraciones de manganeso sobre la longitud de la raíz (cm) de *Cucurbita moschata*



Nota. Elaborada por los autores a partir de los datos presentados en la Tabla 4.

La Figura 3 muestra la variación de la longitud radicular entre los tratamientos evaluados. En concordancia con los resultados de la Tabla 4, los tratamientos Mn $\frac{1}{4}$, Mn1, Mn5 y Mn40 presentaron los mayores valores medios, mientras que Mn2 registró el menor crecimiento. La prueba de comparación múltiple de Tukey permitió identificar las diferencias entre los tratamientos: Mn $\frac{1}{4}$ y Mn40 se ubicaron en el grupo estadístico A, mientras que Mn1, Mn5, Mn20 y el control se ubicaron en el grupo AB. El tratamiento Mn10 perteneció al grupo ABC, y Mn $\frac{1}{2}$ al grupo BC. Finalmente, Mn2 se ubicó exclusivamente en el grupo C y presentó la menor media de longitud radicular.

La clasificación estadística indica que los tratamientos que comparten letras no presentan diferencias significativas entre sus medias. En contraste, los tratamientos que no comparten letras sí presentan diferencias significativas. De esta manera, el tratamiento Mn2 presentó diferencias significativas con los tratamientos pertenecientes exclusivamente al grupo A, particularmente Mn $\frac{1}{4}$ y Mn40, mientras que los tratamientos con grupos compartidos mostraron respuestas intermedias.

En conjunto, los resultados indican que las diferentes concentraciones de manganeso no afectaron significativamente el porcentaje de germinación, pero sí generaron un efecto significativo sobre la longitud de la raíz de *C. moschata*. La respuesta radicular no presentó una tendencia lineal asociada con el incremento de la concentración, ya que los mayores valores se obtuvieron tanto con una concentración baja, como Mn $\frac{1}{4}$, como con una concentración elevada, Mn40. Por el contrario, el menor crecimiento se observó en Mn2, lo que evidencia una respuesta diferencial de la planta según la concentración específica de manganeso aplicada.

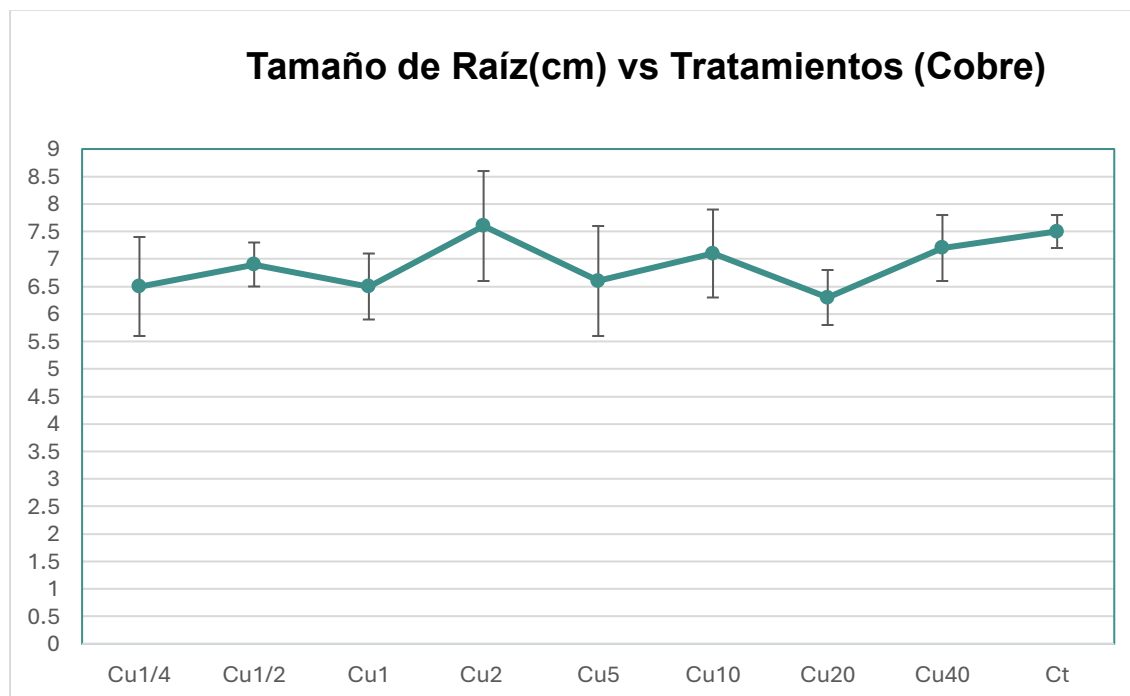
1.4. Ensayo de Germinación con aplicación de Cobre

Los resultados se presentan en la Tabla 3. Los porcentajes de germinación oscilaron entre 77,7 % y 91,1 %, evidenciando variaciones en la respuesta germinativa de las semillas según la concentración de cobre aplicada. El mayor porcentaje de germinación se registró en el tratamiento Cu1, con una media de 91,1 %, seguido del tratamiento control, con 88,8 %. Los tratamientos Cu2, Cu5 y Cu10 presentaron una media de 86,6 %, mientras que Cu20 alcanzó un valor de 84,4 %. Por su parte, los tratamientos Cu $\frac{1}{4}$ y Cu $\frac{1}{2}$ presentaron valores de 82 % y 80 %, respectivamente. El menor porcentaje de germinación correspondió al tratamiento Cu40, con una media de 77,7 %. A pesar de las diferencias observadas entre las medias, el análisis de varianza no evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados ($F = 1,42$; $p = 0,253$). Asimismo, todos los tratamientos se ubicaron en el grupo estadístico A según la prueba de Tukey, lo que indica que no se presentaron diferencias significativas entre las concentraciones de cobre aplicadas ($P \leq 0,05$). En conjunto,

los resultados indican que las variaciones observadas en el porcentaje de germinación no fueron suficientes para demostrar un efecto estadísticamente significativo de las concentraciones de cobre sobre la germinación de *C. moschata*. Aunque el tratamiento Cu1 presentó la mayor media numérica y Cu40 la menor, ambos tratamientos pertenecieron al mismo grupo estadístico, por lo que sus diferencias no fueron estadísticamente significativas.

La Tabla 4 representa las medias de longitud de raíz obtenidas para las semillas de *Cucurbita moschata* sometidas a diferentes concentraciones de cobre. Los valores promedio oscilaron entre 6,3 y 7,6 cm. El tratamiento Cu2 presentó la mayor longitud media, con 7,6 cm, seguido del tratamiento control, con 7,5 cm, y Cu40, con 7,2 cm. En contraste, el tratamiento Cu20 registró la menor longitud promedio, con 6,3 cm. Los tratamientos Cu $\frac{1}{4}$ y Cu1 presentaron una media de 6,5 cm, mientras que Cu $\frac{1}{2}$ alcanzó 6,9 cm, Cu5 presentó 6,6 cm y Cu10 mostró una media de 7,1 cm.

Figura 4 Efecto de diferentes concentraciones de cobre sobre la longitud de la raíz (cm) de *Cucurbita moschata*



Nota. Elaborada por los autores a partir de los datos presentados en la Tabla 4.

Como se observa en la Figura 4, el tratamiento Cu2 presentó la mayor media de longitud radicular, seguido del control y de Cu40, mientras que Cu20 presentó el menor valor promedio. Sin embargo, las diferencias observadas entre los tratamientos no fueron estadísticamente significativas. El análisis de varianza mostró un valor de $F = 1,92$ y un valor de $p = 0,086$ (Tabla 4). Debido a que el valor de p fue superior al nivel de significancia establecido ($P \leq 0,05$), no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados. Por lo tanto, las variaciones observadas en la longitud de la raíz no permiten establecer un efecto significativo de las diferentes concentraciones de cobre sobre esta variable.

En conjunto, aunque Cu2 presentó la mayor media de longitud radicular (7,6 cm) y Cu20 el menor (6,3 cm), estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Por tanto, bajo las condiciones experimentales evaluadas, las concentraciones de cobre no produjeron un efecto significativo sobre el crecimiento de la raíz de *C. moschata*.

1.5. Resumen de los resultados de la etapa de germinación

Tabla 5 Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para la longitud de raíz en la Etapa 1 de germinación

Complejo evaluado	F	p	Resultado
Ácido nicotínico (AN)	0,61	0,762	No significativo
Cobre (Cu)	1,92	0,086	No significativo
Zinc (Zn)	0,93	0,507	No significativo
Manganeso (Mn)	5,51	< 0,001	Significativo

Nota. Elaborada por los autores con base en los resultados anteriores. Nivel de significancia ($P \leq 0,05$).

2. Etapa: Ensayos de hidroponía

La selección de las cuatro concentraciones más bajas se fundamentó en los resultados de la etapa de germinación, donde se observó que las dosis reducidas mantuvieron un desempeño igual o superior al de las concentraciones más altas. Debido a que cobre, zinc, hierro y manganeso son micronutrientes requeridos en cantidades muy bajas por las plantas, concentraciones elevadas pueden superar el umbral fisiológico y generar respuestas inhibitorias o fitotóxicas. Por ello, la fase hidropónica se enfocó en las concentraciones de mayor potencial bioestimulante, optimizando el diseño experimental.

2.1. *Ensayo de Hidroponía con complejo de ácido nicotínico*

La prueba de comparación de medias de Tukey (tabla 6) mostró que el tratamiento AN1/2 (grupo A) presentó una longitud de raíz significativamente superior a los tratamientos AN1/4, AN1 y el control (grupo B), mientras que el tratamiento AN2 (grupo AB) mostró un comportamiento intermedio, sin diferir estadísticamente de los grupos A y B. Estos resultados demuestran que hay una diferencia significativa entre los tratamientos evaluados ($F=6,56$; $P=0,002$). El valor obtenido está por debajo del nivel de significancia establecido ($P \leq 0,05$) lo que sugiere que al menos uno de los tratamientos tuvo un comportamiento distinto.

Tabla 6 *Análisis estadístico de la longitud de la raíz de Cucurbita moschata bajo diferentes concentraciones de ácido nicotínico*

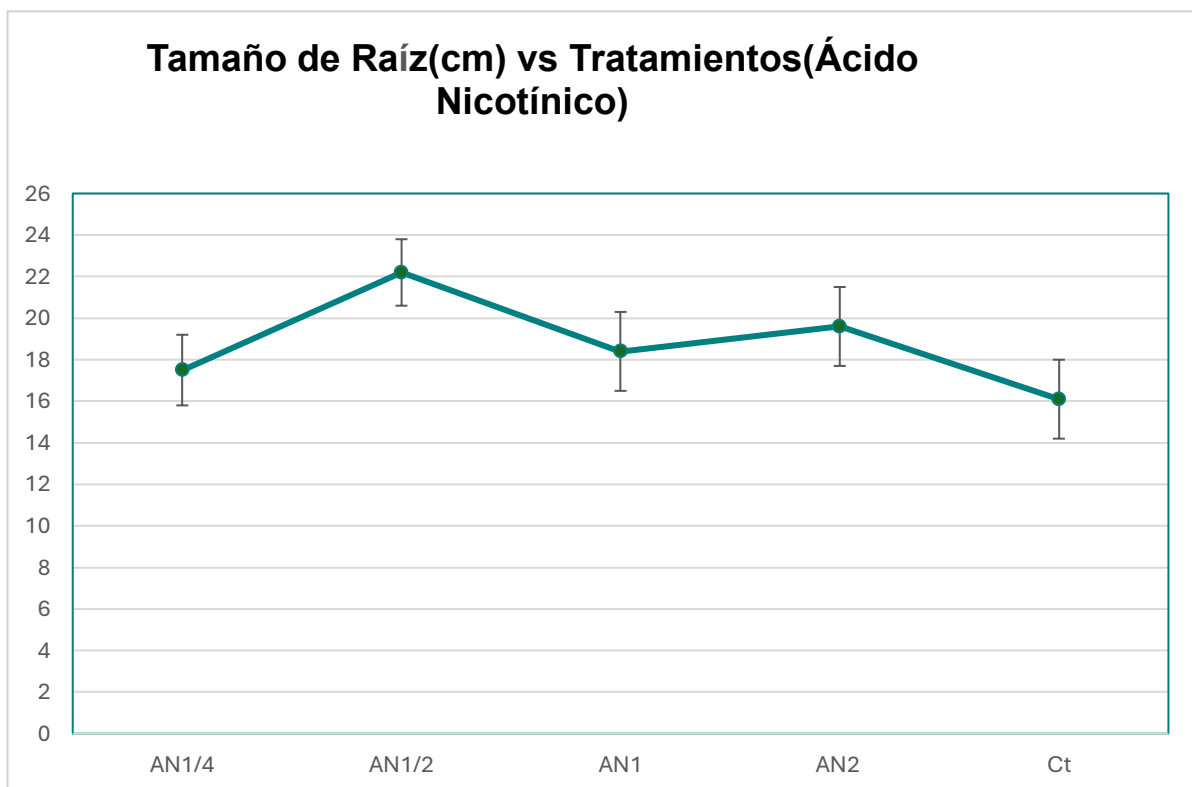
Tratamientos	Media	Agrupación	Desv.	Valor F	Valor p
$\mu\text{mol/L}$	(cm)		Est		
AN1/4	17,5	B	1,7	6,56	0,002
AN1/2	22,2	A	1,6		
AN1	18,4	B	1,9		
AN2	19,6	AB	1,9		
Ct	16,1	B	1,9		



Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

La Figura 5 confirma que la longitud media de la raíz presentó un comportamiento diferente entre los tratamientos, sin evidenciar una tendencia ascendente o descendente constante. Se observa un incremento inicial hasta el tratamiento AN1/2, seguido de variaciones en las concentraciones posteriores y una disminución en el tratamiento control.

Figura 1 Efecto de diferentes concentraciones de ácido nicotínico sobre la longitud de la raíz (cm) de *Cucurbita moschata*



2.2. Ensayo de Hidroponía con complejo de Zinc

La prueba de comparación de las medias de aplicada a la variable de longitud de raíz en los diferentes tratamientos de zinc no evidenció diferencias significativas entre ellos debido a que el valor nulo (cero) se encontró dentro de los límites inferiores y superiores de



cada intervalo. En la tabla 7 los resultados muestran que todos los tratamientos hacen parte de un grupo homogéneo (A), al igual que el análisis de varianza (ANOVA), no se evidenció un efecto significativo de los tratamientos sobre la variable analizada ($p=0,159$).

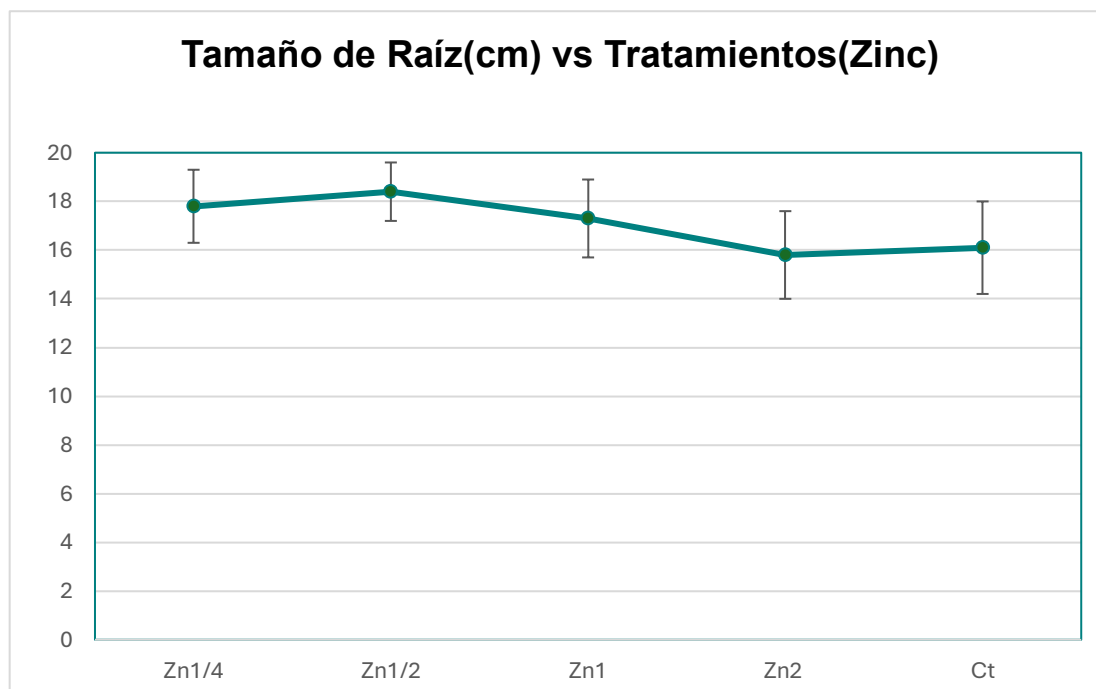
Tabla 7 *Análisis estadístico de la longitud de la raíz de Cucurbita moschata bajo diferentes concentraciones de zinc*

Tratamientos $\mu\text{mol/L}$	Media (cm)	Agrupación	Desv. Est	Valor F	Valor p
Zn1/4	17,8	A	1,5	1,89	0,159
Zn1/2	18,4	A	1,2		
Zn1	17,3	A	1,6		
Zn2	15,8	A	1,8		
Ct	16,1	A	1,9		

Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

La Figura 6 presenta los intervalos de confianza para la longitud de raíz de las plantas de auyama sometidas a diferentes tratamientos de Zinc. La concentración Zn $\frac{1}{2}$, presentó el valor promedio más alto (18,4 cm), seguido de Zn $\frac{1}{4}$ (17,8 cm) y Zn1 (17,3 cm), mientras que el tratamiento Zn2 (15,8) fue el de menor promedio. A pesar de que hubo diferencias numéricas en los tratamientos, no hubo diferencia significativa entre ellos.

Figura 2 Efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre la longitud de la raíz (cm) de *Cucurbita moschata*



2.3. Ensayo de Hidroponía con complejo de manganeso

La longitud de la raíz de *Cucurbita moschata* presentó variaciones entre los tratamientos evaluados con manganeso. Las medias obtenidas oscilaron entre 14,4 y 18,3 cm. Con el fin de identificar cuáles tratamientos presentaron diferencias significativas entre sus medias, se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey. El tratamiento Mn2, con una media de 18,3 cm, se ubicó en el grupo estadístico A, mientras que los tratamientos Mn1/4 y Mn1/2, con medias de 15,0 y 14,4 cm, respectivamente, se ubicaron en el grupo B. Por su parte, los tratamientos Mn1 y Control se ubicaron en el grupo AB, con medias de 16,3 y 16,1 cm, respectivamente. En este sentido, Mn2 presentó diferencias significativas con Mn1/4 y Mn1/2, debido a que pertenecen a grupos estadísticos diferentes (A y B, respectivamente). En contraste, los tratamientos Mn1 y Control, pertenecientes al grupo AB, no mostraron diferencias significativas con Mn2 ni con Mn1/4 y Mn1/2, debido a que comparten letras con ambos grupos. (Tabla 8)



El análisis de varianza (ANOVA) evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados ($F = 4,18$; $p = 0,014$). Debido a que el valor de p fue inferior al nivel de significancia establecido ($P \leq 0,05$), se rechaza la hipótesis de igualdad de medias, indicando que al menos uno de los tratamientos produjo un efecto significativamente diferente sobre la longitud de la raíz de *C. moschata*.

Tabla 8 Análisis estadístico de la longitud de la raíz de *Cucurbita moschata* bajo diferentes concentraciones de manganeso

Tratamientos	$\mu\text{mol/L}$	Media (cm)	Agrupación	Desv. Est	Valor F	Valor p
Mn1/4		15	B	1,7	4,18	0,014
Mn1/2		14,4	B	1,6		
Mn1		16,3	AB	1,8		
Mn2		18,3	A	1		
Ct		16,1	AB	1,9		

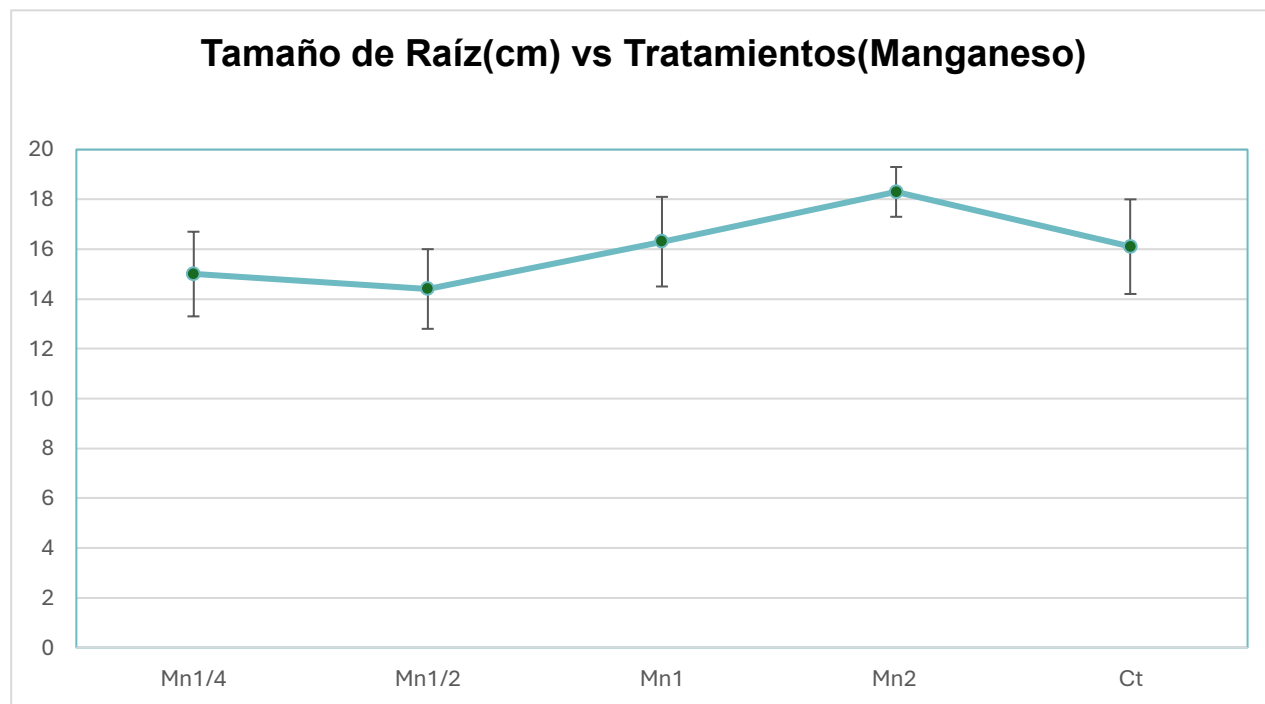
Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

Como se observa en la Figura 7, el tratamiento Mn2 presentó el mayor valor promedio de longitud radicular (18,3 cm), mientras que Mn1/2 presentó el menor valor (14,4 cm). Los tratamientos Mn1 y control mostraron valores intermedios, con medias de 16,3 y 16,1 cm, respectivamente. Esta variación visual entre las medias es consistente con el resultado significativo obtenido mediante el análisis de varianza.

En conjunto, los resultados evidencian que el manganeso produjo un efecto significativo sobre la longitud de la raíz de *C. moschata*. La respuesta no siguió una relación lineal directamente proporcional con la concentración aplicada, ya que el mayor crecimiento

se observó en Mn2, mientras que las concentraciones Mn1/4 y Mn1/2 presentaron valores inferiores.

Figura 3 Efecto de diferentes concentraciones de manganeso sobre la longitud de la raíz (cm) de *Cucurbita moschata*



2.4. Ensayo de Hidroponía con complejo de cobre

La longitud de la raíz de *Cucurbita moschata* presentó variaciones entre los tratamientos evaluados con cobre. Las medias obtenidas oscilaron entre 10,7 y 16,1 cm. El tratamiento Cu1/4, con una media de 10,7 cm, se ubicó en el grupo estadístico B. El tratamiento Cu1/2, con una media de 14,0 cm, se ubicó en el grupo AB, mientras que los tratamientos Cu1, Cu2 y control, con medias de 15,8; 12,8 y 16,1 cm, respectivamente, se ubicaron en el grupo A. En este sentido, Cu1/4, perteneciente exclusivamente al grupo B, presentó diferencias significativas con los tratamientos Cu1, Cu2 y control, pertenecientes al grupo A. Por otro lado, Cu1/2, ubicado en el grupo AB, presentó una respuesta intermedia, ya que comparte letras tanto con el grupo A como con el grupo B (Tabla 9)

El análisis de varianza evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados ($F = 7,55$; $p = 0,001$). Debido a que el valor de p fue inferior al nivel

de significancia establecido ($P \leq 0,05$), se determinó que al menos uno de los tratamientos produjo un efecto significativamente diferente sobre la longitud de la raíz de *C. moschata*.

Tabla 9 *Análisis estadístico de la longitud de la raíz de Cucurbita moschata bajo diferentes concentraciones de cobre*

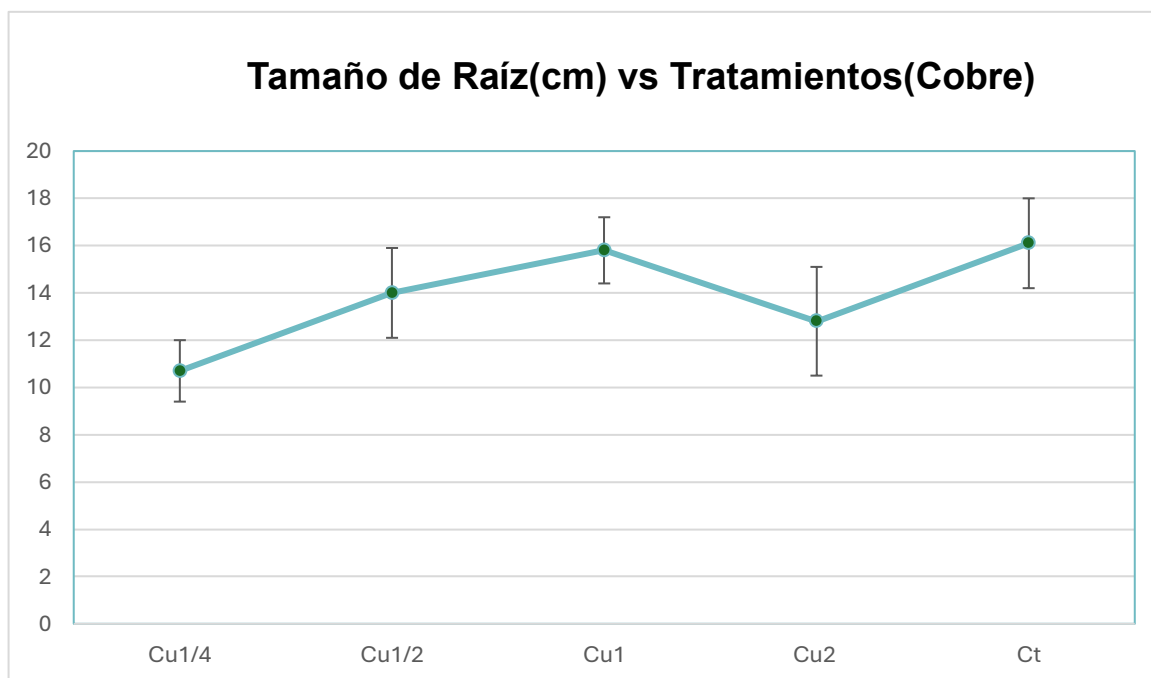
Tratamientos $\mu\text{mol/L}$	Media (cm)	Agrupación	Desv. Est	Valor F	Valor p
Cu1/4	10,7	B	1,3	7,55	0,001
Cu1/2	14	AB	1,9		
Cu1	15,8	A	1,4		
Cu2	12,8	A	2,3		
Ct	16,1	A	1,9		

Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

Como se observa en la Figura 8, el tratamiento control presentó el mayor valor promedio de longitud radicular, seguido de Cu1. El tratamiento Cu1/4 mostró el menor crecimiento de la raíz. Los tratamientos Cu1/2 y Cu2 presentaron valores intermedios, aunque Cu2 mostró una disminución respecto a Cu1/2. Por tanto, la respuesta radicular presentó variaciones entre las concentraciones de cobre evaluadas, sin seguir una tendencia lineal directamente proporcional al aumento de la concentración.

En conjunto, los resultados evidencian que las concentraciones de cobre evaluadas produjeron un efecto significativo sobre la longitud de la raíz de *C. moschata*. El tratamiento control presentó la mayor media de crecimiento radicular, mientras que Cu1/4 registró el menor valor y se diferenció significativamente de los tratamientos Cu1, Cu2 y control. La respuesta observada no siguió una relación lineal con la concentración de cobre, lo que indica que el efecto sobre el desarrollo radicular dependió de la concentración específica aplicada.

Figura 4 Efecto de diferentes concentraciones de cobre sobre la longitud de la raíz (cm) de *Cucurbita moschata*



2.5. Resumen de los resultados de la etapa de hidroponía

Tabla 10 Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para la longitud de raíz en la Etapa 2 de hidroponía

Complejo evaluado	F	p	Resultado
Ácido nicotínico (AN)	6,56	0,002	Significativo
Cobre (Cu)	7,55	0,001	Significativo
Manganeso (Mn)	4,18	0,014	Significativo
Zinc (Zn)	1,89	0,159	No significativo

Nota. Elaborada por los autores con base en los resultados anteriores. Nivel de significancia ($P \leq 0,05$).

3. Etapa (Estrés Hídrico)

3.1. Ensayo de Estrés Hídrico con complejos metálicos

Con el propósito de establecer un punto de comparación para el tercer objetivo específico de la investigación, en esta primera parte de la etapa de estrés hídrico se evaluó el efecto exclusivo de los complejos metálicos sobre la longitud de raíz y el contenido de los tres pigmentos fotosintéticos, en los tratamientos Ctr, AN, Cu, Mn y Zn, sin ningún tipo de inoculación bacteriana. Esta condición funciona como grupo de referencia o línea base, frente a la cual se contrastarán, en el apartado 3.2, los resultados obtenidos al combinar los mismos complejos metálicos con la inoculación de *Bacillus mycoides*. El análisis conjunto de ambos apartados constituye la evidencia central para determinar si existe una interacción sinérgica entre la bacteria y los compuestos metálicos, o si, por el contrario, los efectos observados se deben únicamente a la acción de estos últimos por sí solos.

3.1.1. Raíz

Aunque se aprecia una tendencia hacia mayores longitudes radiculares en los tratamientos con complejos metálicos, particularmente con ácido nicotínico, el análisis de varianza no evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($F = 2,85$; $p = 0,081$). Asimismo, la prueba de comparación de medias agrupó todos los tratamientos en un único grupo estadístico (A), indicando que las variaciones observadas pueden atribuirse a la variabilidad experimental y no al efecto de los tratamientos evaluados (Tabla 11).

Tabla 11 *Análisis estadístico de la longitud de la raíz de Cucurbita moschata bajo estrés hídrico*

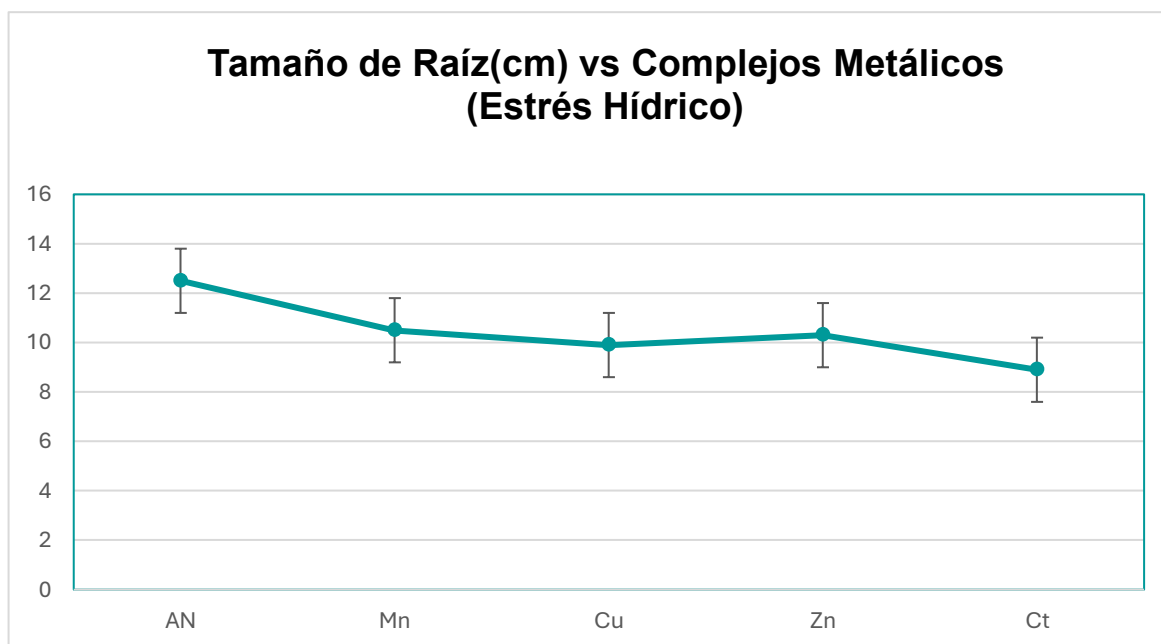
Tratamientos $\mu\text{mol/L}$	Media (cm)	Agrupación	Desv. Est	Valor F	Valor p
AN	12,5	A	1,3	2,85	0,081
Mn	10,5	A	1,3		
Cu	9,9	A	1,3		
Zn	10,3	A	1,3		
Ct	8,9	A	1,3		

Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de

Tukey ($P \leq 0,05$)

La Figura 9 presenta el efecto de los diferentes complejos metálicos sobre la longitud de la raíz de *Cucurbita moschata* bajo condiciones de estrés hídrico. Se evidencia una disminución de la longitud de la raíz desde el tratamiento con ácido nicotínico hacia el control, con un comportamiento relativamente estable entre los tratamientos con manganeso, cobre y zinc. Las barras de desviación estándar muestran una dispersión similar entre tratamientos, lo que refleja una variabilidad homogénea en las mediciones y una amplia superposición de los intervalos de variación, consistente con la ausencia de diferencias significativas detectadas mediante el ANOVA.

Figura 5 Efecto de los complejos metálicos sobre la longitud de la raíz (cm) de *Cucurbita moschata* bajo estrés hídrico.



3.1.2. Pigmentos (Clorofila a)

El análisis de varianza (ANOVA) realizado para la variable clorofila A (Tabla 12) mostró que los tratamientos evaluados no tuvieron diferencia significativa ($F = 1,02$; $p = 0,443$). Debido a que el valor de p fue superior al nivel de significancia establecido ($P \leq 0,05$), no se encontraron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos AN, Ct, Cu, Mn y Zn. Particularmente, la comparación entre Zn y Mn, que presentó la mayor diferencia entre medias, mostró un intervalo de confianza que abarcó valores negativos y positivos, indicando la ausencia de una diferencia estadísticamente significativa. Por tanto, los resultados respaldan la hipótesis nula y permiten concluir que los tratamientos aplicados no ejercieron un efecto significativo sobre los niveles de clorofila A bajo las condiciones experimentales evaluadas.



Tabla 12 *Análisis estadístico de los pigmentos (clorofila a)*

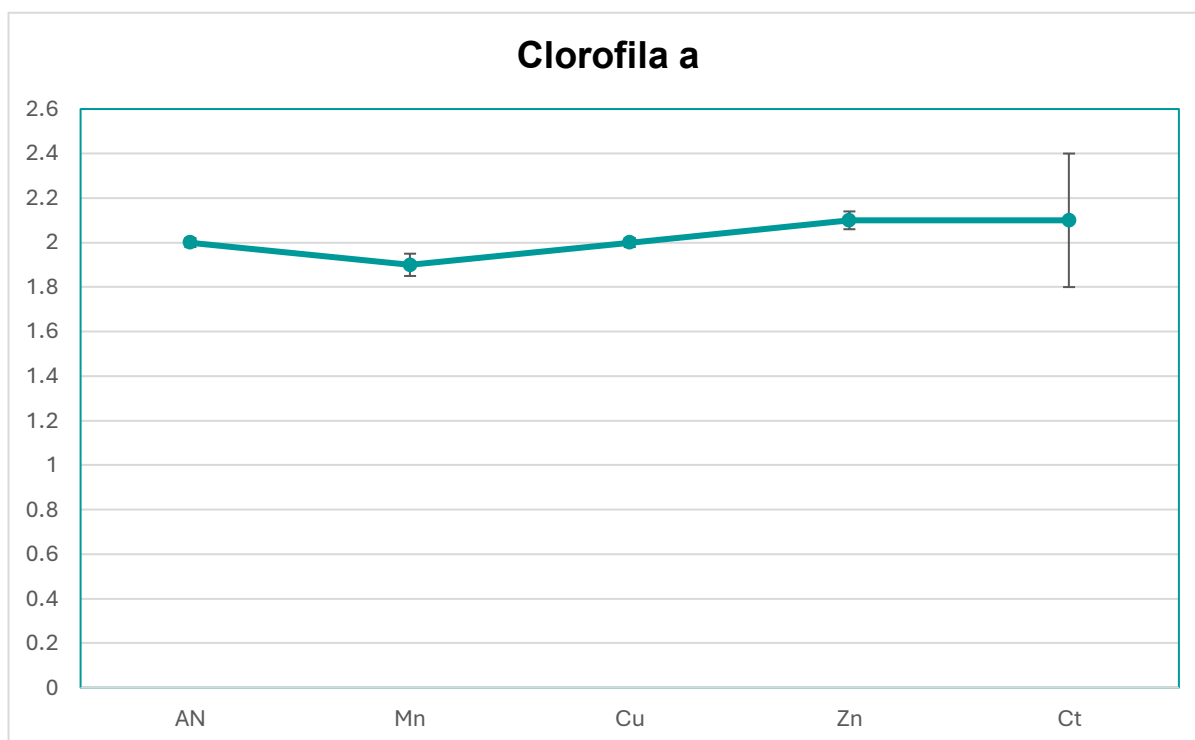
Tratamientos $\mu\text{mol/L}$	Media (cm)	Agrupación	Desv. Est	Valor F	Valor p
AN	2	A	0,02	1,02	0,443
Mn	1,9	A	0,05		
Cu	2	A	0,02		
Zn	2,1	A	0,04		
Ct	2,1	A	0,3		

Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de

Tukey ($P \leq 0,05$)

Al examinar la Figura 10, se observan las tendencias descriptivas de las medias para cada grupo evaluado. El tratamiento con Zinc (Zn) y el grupo Control (Ct) registraron los valores promedio más altos de este pigmento. Por su parte, el tratamiento de Ácido Nicotínico (AN) y el tratamiento con Cobre (Cu) mostraron un comportamiento intermedio muy similar. Finalmente, el tratamiento con Manganeseo (Mn) mostró la menor concentración media de todo el ensayo. Asimismo, las barras de error evidencian una variabilidad en las mediciones de cada tratamiento y una amplia superposición entre ellas, lo que sugiere que las diferencias entre las medias fueron reducidas. Esta superposición indica que los valores individuales de los tratamientos presentan un comportamiento similar y que la variabilidad experimental fue comparable entre los grupos evaluados.

Figura 6 Clorofila a ($\mu\text{g/g}$) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico



3.1.3. Pigmentos (Clorofila b)

Los tratamientos con Ácido Nicotínico (AN), Cobre (Cu) y Zinc (Zn) registraron los mayores valores promedio de clorofila b (0,7), evidenciando un comportamiento prácticamente idéntico entre ellos. En contraste, el tratamiento con Manganeseo (Mn) presentó un valor promedio ligeramente inferior (0,6), mientras que el grupo Control (Ct) registró la menor concentración promedio (0,5). No obstante, las diferencias entre las medias fueron reducidas y no evidencian una tendencia marcada de incremento o disminución atribuible a un tratamiento específico. Los resultados mostraron un valor de $F = 0,69$ y un valor $p = 0,613$. Dado que el valor de probabilidad fue superior al nivel de significancia establecido ($P \leq 0,05$), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados.



Tabla 13 *Análisis estadístico de los pigmentos (clorofila b)*

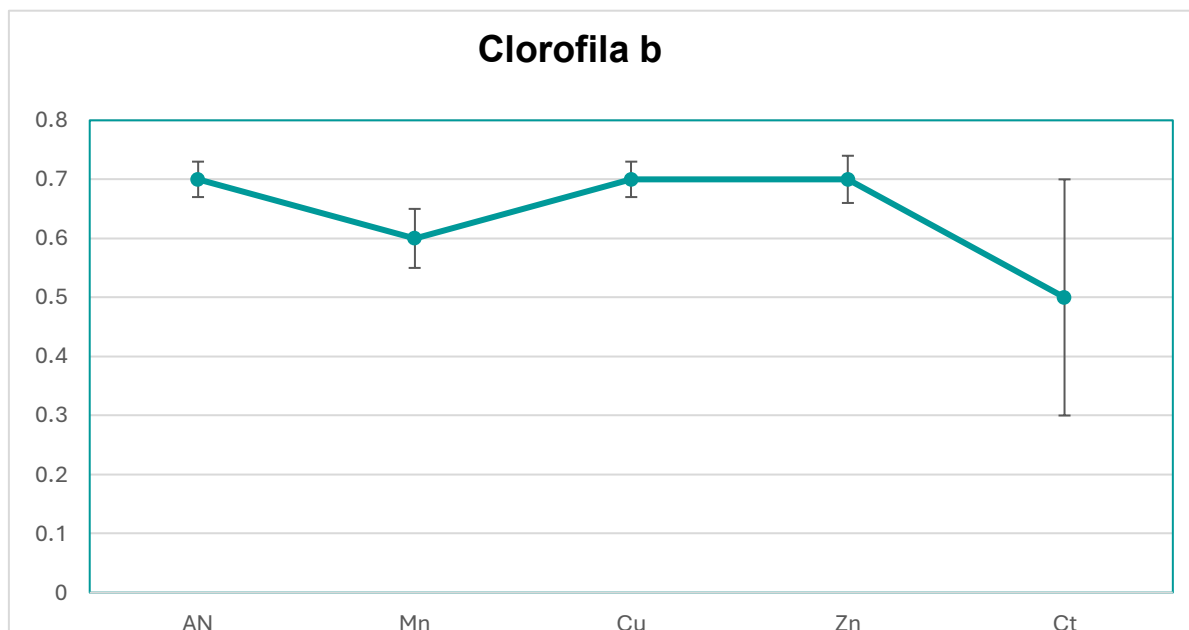
Tratamientos	$\mu\text{mol/L}$	Media (cm)	Agrupación	Desv. Est	Valor F	Valor p
AN		0,7	A	0,03	0,69	0,613
Mn		0,6	A	0,05		
Cu		0,7	A	0,03		
Zn		0,7	A	0,04		
Ct		0,5	A	0,2		

Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey

($P \leq 0,05$)

Al examinar la Figura 11, se observa el comportamiento del contenido de clorofila b en las plantas de *Cucurbita moschata* sometidas a los diferentes complejos metálicos bajo condiciones de estrés hídrico. De manera general, las medias obtenidas presentaron una distribución muy similar entre los tratamientos, lo que indica que la aplicación de los diferentes complejos no produjo cambios marcados en la concentración de este pigmento fotosintético. Las barras de error muestran una baja variabilidad en los tratamientos con AN, Cu y Zn, lo que refleja una respuesta consistente entre las repeticiones experimentales. Por el contrario, el tratamiento Control presentó la mayor dispersión de los datos, evidenciada por una barra de error de mayor amplitud, lo que indica una mayor variabilidad en las mediciones realizadas para este grupo. A pesar de esta diferencia en la dispersión, las barras de error presentan una superposición considerable entre tratamientos, lo que sugiere que las variaciones observadas corresponden principalmente a la variabilidad experimental.

Figura 7 Clorofila *b* ($\mu\text{g/g}$) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico



3.1.4. Pigmentos (Carotenoides)

El análisis de varianza (ANOVA) realizado para la variable Carotenoides mostró que el efecto de los tratamientos no fue estadísticamente significativo ($F = 0,66$; $p = 0,633$). Esto se puede asumir debido a que el valor de p fue superior al nivel de significancia establecido ($P \leq 0,05$), a pesar de que hubo diferencias numéricas entre los resultados, no se encontraron evidencias suficientes para afirmar que los tratamientos evaluados generaron diferencias en el contenido de carotenoides de las plantas de auyama las cuales fueron sometidas a estrés hídrico.

Tabla 14 *Análisis estadístico de los pigmentos (carotenoides)*

Tratamientos $\mu\text{mol/L}$	Media (cm)	Agrupación	Desv. Est	Valor F	Valor p
AN	0,5	A	0,02	0,66	0,633
Mn	0,4	A	0,02		
Cu	0,5	A	0,02		
Zn	0,6	A	0,02		
Ct	0,6	A	0,1		

Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey

($P \leq 0,05$)

Al examinar la Figura 12, se observa que los valores promedio oscilaron entre 0,4 y 0,6, evidenciando una variación reducida entre los tratamientos evaluados.

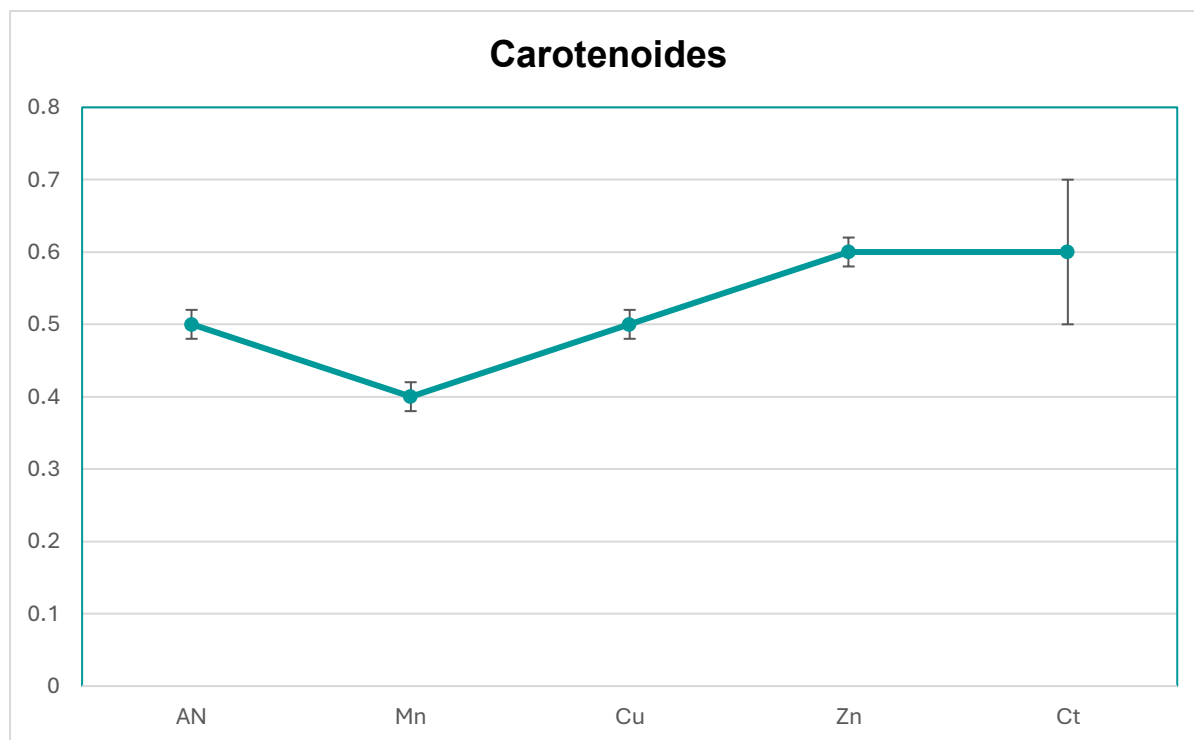
El tratamiento con Manganeseo (Mn) presentó la menor concentración promedio de carotenoides (0,4), mientras que los tratamientos con Ácido Nicotínico (AN) y Cobre (Cu) registraron valores intermedios de 0,5. Por su parte, los tratamientos con Zinc (Zn) y el Control (Ct) alcanzaron las mayores concentraciones promedio (0,6), mostrando un comportamiento muy similar entre ambos.

La tendencia de la figura evidencia una disminución inicial del contenido de carotenoides desde el tratamiento con Ácido Nicotínico hasta Manganeseo, seguida de un incremento gradual en los tratamientos con Cobre y Zinc, para posteriormente mantenerse estable en el tratamiento Control. Sin embargo, estas variaciones fueron de baja magnitud, lo que refleja una respuesta relativamente uniforme del contenido de carotenoides entre los tratamientos evaluados.

Las barras de error muestran una baja dispersión de los datos en los tratamientos con Ácido Nicotínico, Manganeseo, Cobre y Zinc, indicando una alta consistencia entre las repeticiones experimentales. En contraste, el tratamiento Control presentó una mayor amplitud en la barra de error, lo que evidencia una mayor variabilidad en las mediciones de

este grupo. A pesar de ello, existe una amplia superposición entre las barras de error de los tratamientos, lo que indica que las diferencias observadas entre las medias fueron pequeñas.

Figura 8 Carotenoides ($\mu\text{g/g}$) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico



3.2. Ensayo de Estrés Hídrico + Bacteria con complejos metálicos

Con el propósito de establecer si existía una interacción real entre la inoculación bacteriana y los complejos metálicos evaluados, se determinaron los contenidos de clorofila a, clorofila b y carotenoides en plantas sometidas a estrés hídrico bajo seis condiciones experimentales distintas: Cu+B, Zn+B, Mn+B, AN+B, Ctr+B y el tratamiento control sin ningún tipo de suplementación. Esta etapa constituye el núcleo experimental más importante para responder al tercer objetivo específico del estudio, ya que permite observar de manera directa el comportamiento de la planta cuando ambos factores bioestimulantes actúan de forma conjunta bajo condiciones adversas de disponibilidad hídrica.

3.2.1. Raíz

La longitud de la raíz de *Cucurbita moschata* presentó variaciones entre los tratamientos evaluados bajo condiciones de estrés hídrico y aplicación de bacteria en combinación con los diferentes complejos metálicos. Las medias obtenidas oscilaron entre 8,9 y 20,2 cm. El tratamiento Zn + B presentó la mayor longitud promedio de raíz, con 20,2 cm, seguido de AN + B, con 15,7 cm, y Mn + B, con 15,6 cm. Por otro lado, los tratamientos Ct + B, Cu + B y Ct presentaron valores de 9,8; 9,0 y 8,9 cm, respectivamente. (Tabla 15)

El análisis de varianza (ANOVA) evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados ($F = 27,83$; $p = 0,000$). Debido a que el valor de p fue inferior al nivel de significancia establecido ($\alpha = 0,05$), se determinó que al menos uno de los tratamientos produjo un efecto significativamente diferente sobre la longitud de la raíz de *C. moschata* (Tabla 15)

Tabla 15 *Análisis estadístico de la longitud de la raíz de Cucurbita moschata bajo estrés hídrico + bacteria*

Tratamientos $\mu\text{mol/L}$	Media (cm)	Agrupación	Desv. Est	Valor F	Valor p
AN + B	15,7	B	1,4	27,83	0
Mn + B	15,6	B	2,2		
Cu + B	9	C	0,7		
Zn + B	20,2	A	2,1		
Ct + B	9,8	C	0,6		
Ct	8,9	C	1,3		

Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

Como se observa en la Figura 13, el tratamiento Zn + B presentó la mayor longitud promedio de raíz, alcanzando 20,2 cm, y mostró una marcada diferencia respecto a los demás tratamientos. Los tratamientos AN + B y Mn + B presentaron valores intermedios y similares,

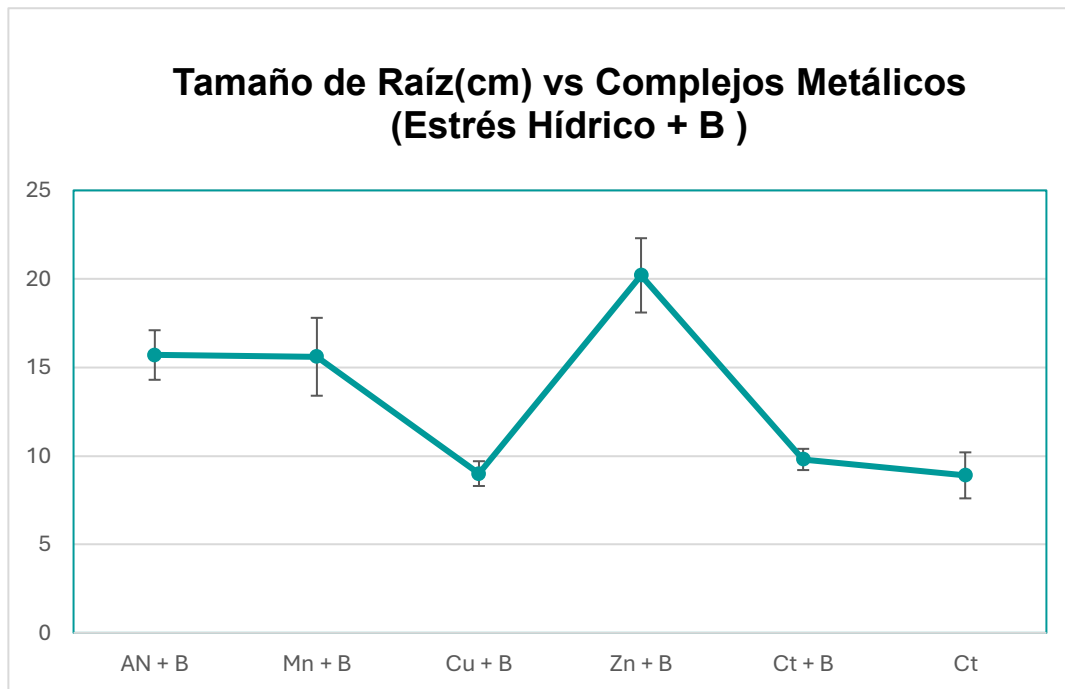
con medias de 15,7 y 15,6 cm, respectivamente. En contraste, los tratamientos Cu + B, Ct + B y Ct registraron las menores longitudes radiculares, con valores de 9,0; 9,8 y 8,9 cm, respectivamente.

La prueba de comparación múltiple de Tukey permitió identificar diferencias significativas entre los tratamientos. El tratamiento Zn + B se ubicó en el grupo estadístico A, mientras que AN + B y Mn + B pertenecieron al grupo B. Por su parte, los tratamientos Cu + B, Ct + B y Ct se ubicaron en el grupo C.

La agrupación estadística indica que los tratamientos que comparten letras no presentan diferencias significativas entre sí. En este caso, el tratamiento Zn + B presentó diferencias significativas con los tratamientos pertenecientes a los grupos B y C, mientras que AN + B y Mn + B presentaron diferencias significativas respecto a los tratamientos del grupo C. Los tratamientos Cu + B, Ct + B y Ct no presentaron diferencias significativas entre sí.

En conjunto, los resultados evidencian que la aplicación del complejo de zinc en combinación con la bacteria produjo el mayor crecimiento radicular bajo condiciones de estrés hídrico, superando ampliamente los valores registrados en los demás tratamientos. Por el contrario, los tratamientos con cobre, control bajo estrés hídrico con bacteria y control presentaron los menores valores de longitud de raíz.

Figura 9 Efecto de los complejos metálicos sobre la longitud de la raíz (cm) de *Cucurbita moschata* bajo estrés hídrico + bacteria



3.2.2. Pigmentos (Clorofila a + bacteria)

La prueba de Tukey mostró que los tratamientos Mn + B, Cu + B y Zn + B pertenecieron al grupo estadístico A, mientras que AN + B, Ct + B y Ct se ubicaron en el grupo B. Por tanto, los tratamientos pertenecientes al grupo A presentaron valores de clorofila a significativamente superiores a los tratamientos del grupo B.

El análisis de varianza (Tabla 16) evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($F = 38,09$; $p = 0,000$), indicando que al menos uno de los tratamientos produjo un efecto diferente sobre el contenido de clorofila a.

Tabla 16 Análisis estadístico de los pigmentos (clorofila a + bacteria)

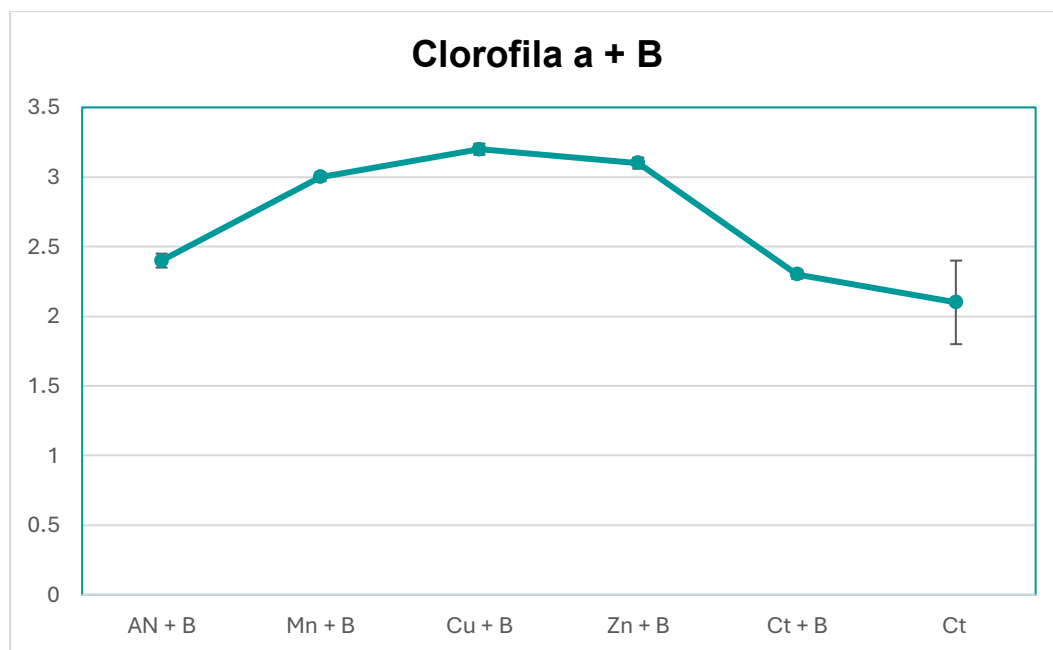
Tratamientos $\mu\text{mol/L}$	Media (cm)	Agrupación	Desv. Est	Valor F	Valor p
AN + B	2,4	B	0,05	38,09	0
Mn + B	3	A	0,03		
Cu + B	3,2	A	0,04		
Zn + B	3,1	A	0,04		
Ct + B	2,3	B	0,03		
Ct	2,1	B	0,3		

*Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey
($P \leq 0,05$)*

La concentración de clorofila a presentó diferencias entre los tratamientos evaluados bajo condiciones de estrés hídrico y aplicación de bacteria. Las medias obtenidas oscilaron entre 2,1 y 3,2. El tratamiento Cu + B presentó la mayor media, con 3,2, seguido de Mn + B, con 3,0, y Zn + B, con 3,1. Como se observa en la tabla 16, En contraste, los tratamientos AN + B, Ct + B y Ct presentaron valores de 2,4; 2,3 y 2,1, respectivamente (Figura 14)

En conjunto, los resultados indican que la aplicación de los complejos de manganeso, cobre y zinc en combinación con la bacteria se asoció con mayores valores de clorofila a, mientras que los tratamientos AN + B, Ct + B y Ct presentaron valores inferiores.

Figura 10 Clorofila a + bacteria ($\mu\text{g/g}$) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico



3.2.3. Pigmentos (Clorofila b + bacteria)

La prueba de Tukey mostró que Mn + B y Zn + B pertenecieron al grupo A, indicando los mayores contenidos de clorofila b. Cu + B se ubicó en el grupo AB, sin diferir significativamente del grupo A. Por su parte, AN + B se clasificó en el grupo ABC, Ct + B en el grupo BC y el control (Ct) en el grupo C, registrando el menor contenido de este pigmento.

El análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($F = 10,99$; $p = 0,000$), indicando que los tratamientos evaluados generaron respuestas diferentes sobre el contenido de clorofila b.

Tabla 17 *Análisis estadístico de los pigmentos (clorofila b + bacteria)*

Tratamientos $\mu\text{mol/L}$	Media (cm)	Agrupación	Desv. Est	Valor F	Valor p
AN + B	0,8	ABC	0,03	10,99	0
Mn + B	1	A	0,01		
Cu + B	1	AB	0,01		
Zn + B	0,9	A	0,03		
Ct + B	0,7	BC	0,01		
Ct	0,5	C	0,2		

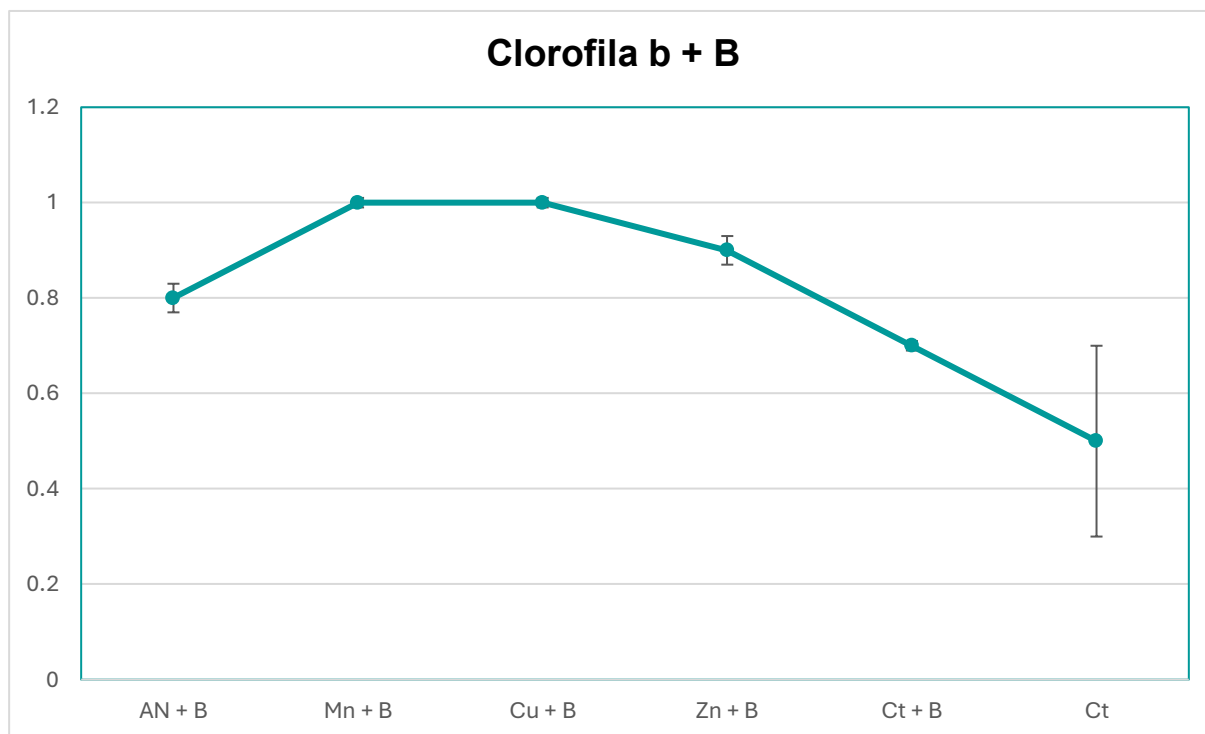
Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

El contenido de clorofila b presentó variaciones entre los tratamientos evaluados. Las medias oscilaron entre 0,5 y 1,0. Los tratamientos Mn + B y Zn + B presentaron las mayores medias, con 1,0 y 0,9, respectivamente, mientras que AN + B alcanzó un valor de 0,8. Por su parte, Cu + B presentó una media de 1,0, mientras que Ct + B y Ct registraron los valores más bajos, con 0,7 y 0,5, respectivamente.

El mayor contenido de clorofila b observado en los tratamientos con manganeso y cobre sugiere que estos compuestos metálicos, en combinación con *B. mycoides*, contribuyeron a preservar la integridad del aparato fotosintético.

Estos resultados indican que Mn + B y Zn + B presentaron los mayores valores de clorofila b, mientras que el control presentó el menor valor. La agrupación estadística evidencia una respuesta gradual entre los tratamientos, con valores intermedios para Cu + B, AN + B y Ct + B.

Figura 11 *Clorofila b + bacteria ($\mu\text{g/g}$) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico*



3.2.4. Pigmentos (Carotenoides + bacteria)

La prueba de Tukey clasificó los tratamientos Mn + B, Cu + B y Zn + B en el grupo estadístico A, mientras que AN + B, Ct + B y Ct se ubicaron en el grupo B. Esto indica que los tratamientos con manganeso, cobre y zinc en combinación con la bacteria presentaron valores significativamente superiores de carotenoides en comparación con los tratamientos pertenecientes al grupo B. (Tabla 18)

En conjunto, los resultados muestran que la aplicación de los complejos metálicos en combinación con la bacteria favoreció la acumulación de carotenoides bajo condiciones de estrés hídrico, particularmente en los tratamientos Mn + B, Cu + B y Zn + B.

El análisis de varianza evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($F = 20,74$; $p = 0,000$), lo que indica que al menos uno de los tratamientos produjo un efecto significativamente diferente sobre el contenido de carotenoides. (Tabla 18)



Tabla 18 *Análisis estadístico de los pigmentos (carotenoides + bacteria)*

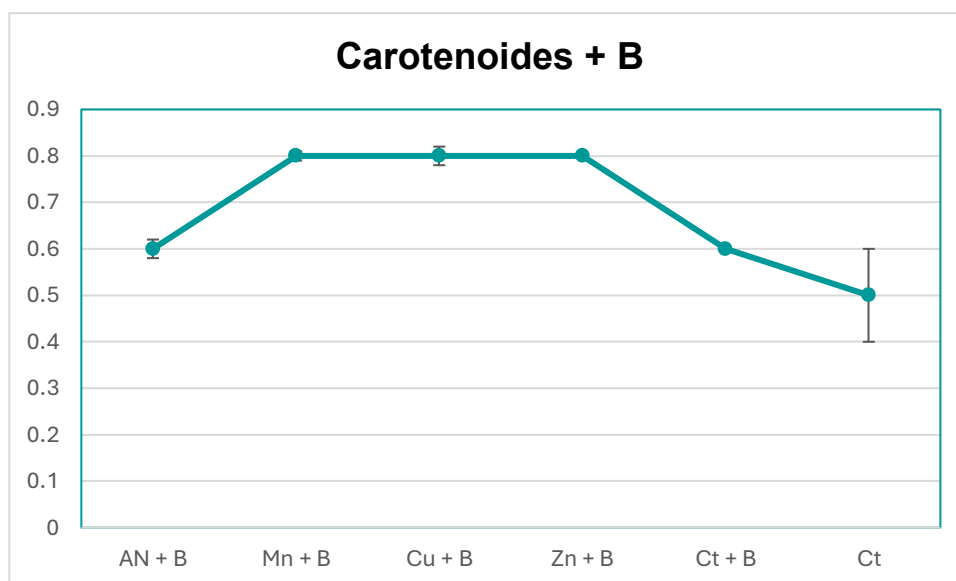
Tratamientos $\mu\text{mol/L}$	Media (cm)	Agrupación	Desv. Est	Valor F	Valor p
AN + B	0,6	B	0,02	20,74	0
Mn + B	0,8	A	0,01		
Cu + B	0,8	A	0,02		
Zn + B	0,8	A	0		
Ct + B	0,6	B	0,01		
Ct	0,5	B	0,1		

Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de

Tukey ($P \leq 0,05$)

El contenido de carotenoides presentó diferencias entre los tratamientos evaluados, con medias que oscilaron entre 0,5 y 0,8. Los tratamientos Mn + B, Cu + B y Zn + B presentaron las mayores medias, con un valor de 0,8. Por su parte, AN + B y Ct + B registraron valores de 0,6, mientras que el control Ct presentó la menor media, con 0,5.

Figura 12 Carotenoides + bacteria ($\mu\text{g/g}$) en los diferentes complejos metálicos bajo estrés hídrico



3.3. Resumen de los resultados de la etapa de estrés hídrico

Tabla 19 Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para clorofila a, clorofila b y carotenoides, con y sin inoculación de *Bacillus mycoides* (Etapas 3-1 y 3-2)

Variable	Sin <i>B. mycoides</i> (Etapa 3-1)	Con <i>B. mycoides</i> (Etapa 3-2)
Clorofila a	F = 1,02; p = 0,443 (ns)	F = 38,09; p < 0,001 (significativo)
Clorofila b	F = 0,69; p = 0,613 (ns)	F = 10,99; p < 0,001 (significativo)
Carotenoides	F = 0,66; p = 0,633 (ns)	F = 20,74; p < 0,001 (significativo)

Nota. Elaborada por los autores con base en los resultados anteriores. ns = no significativo ($P \leq 0,05$).

Discusión

Este capítulo interpreta los resultados obtenidos a la luz de la literatura científica, organizándose según los tres objetivos específicos de la investigación: el efecto de las



concentraciones de compuestos metálicos sobre la germinación y el crecimiento inicial, el efecto de la inoculación con *Bacillus mycoides* sobre la respuesta fisiológica bajo estrés hídrico, y el efecto combinado de ambos factores sobre la tolerancia de *Cucurbita moschata* a dicho estrés.

Efecto de los compuestos metálicos sobre la germinación y el crecimiento inicial

La germinación constituye una de las etapas más críticas para que un cultivo alcance su máximo potencial productivo (Farooq et al., 2022). En este estudio, la mayoría de los complejos metálicos evaluados, es decir, el ácido nicotínico, el cobre y el zinc, no generaron diferencias estadísticamente significativas en la longitud de raíz durante la fase de germinación, mientras que el manganeso fue la única excepción. Este resultado no debe interpretarse como una ausencia de respuesta biológica, sino que sugiere que, en las primeras etapas del desarrollo, la disponibilidad de estos compuestos metálicos probablemente no constituyó aún un factor limitante para la planta, ya que la semilla dispone de sus propias reservas nutricionales para sostener la germinación inicial (Hopkins & Hüner, 2023).

Los complejos metálicos sintetizados a partir de cobre, zinc y manganeso representan, en todo caso, una estrategia relevante para mejorar la disponibilidad y estabilidad de compuestos metálicos esenciales para el metabolismo vegetal (Gupta et al., 2024), y los resultados obtenidos constituyen un punto de partida razonable para su implementación, en la medida en que concentraciones adecuadas podrían favorecer una respuesta más marcada en etapas posteriores del desarrollo de la planta, tal como se evidenció en la fase hidropónica.

En efecto, durante la etapa hidropónica se observó una respuesta diferencial en el crecimiento radicular según el tratamiento aplicado. En términos generales, el cobre, el zinc y el manganeso influyeron en la elongación de la raíz, lo que confirma la importancia de estos compuestos metálicos en procesos fisiológicos asociados con la división celular, la actividad enzimática y la absorción de nutrientes. En el caso del cobre, el efecto observado sobre la

longitud radicular podría atribuirse a su función como cofactor de enzimas involucradas en la respiración celular y en los mecanismos antioxidantes, ya que este elemento participa en proteínas de transporte de electrones y en reacciones de óxido-reducción indispensables para el metabolismo vegetal. No obstante, la respuesta al cobre dependió claramente de la concentración aplicada, pues tanto las dosis muy bajas como las muy altas se asociaron con una menor longitud de raíz frente al control, lo cual es consistente con lo reportado por Dey et al. (2023), quienes señalan que, si bien algunos cultivos hidropónicos toleran concentraciones elevadas de cobre, su exceso puede reducir el crecimiento vegetal debido a la acumulación del elemento en los tejidos radicales.

De manera similar, el zinc mostró una tendencia de mayor longitud radicular en concentraciones intermedias, lo que puede relacionarse con su papel en la síntesis de proteínas, la regulación hormonal y la estabilidad estructural de las membranas celulares, además de su participación en la biosíntesis de auxinas y en la activación enzimática. El manganeso, por su parte, presentó el efecto más consistente sobre el crecimiento radicular en ambas etapas evaluadas, lo cual es coherente con su papel como activador enzimático en diversos procesos metabólicos relacionados con el aprovechamiento de nutrientes, tal como ha sido documentado en sistemas hidropónicos por Raj (2023).

El ácido nicotínico, evaluado de manera comparativa frente a los compuestos metálicos, mostró un comportamiento particular: mientras que en la etapa de germinación no generó diferencias significativas, en la etapa hidropónica sí produjo un efecto estadísticamente significativo sobre la longitud de raíz ($F = 6,56$; $p = 0,002$), un valor incluso más robusto que el observado para el cobre en esa misma variable. Este resultado es consistente con el papel bioquímico del ácido nicotínico como precursor de las coenzimas NAD^+ y $NADP^+$, fundamentales en las reacciones de transferencia de electrones y en el metabolismo energético de la célula vegetal (Bender, 2003), lo que respalda su capacidad de influir sobre procesos de división celular y elongación radicular, aunque por una vía metabólica distinta, la energética, a la de los compuestos metálicos, que actúan principalmente como cofactores enzimáticos estructurales. En conjunto, estos resultados



indican que el crecimiento radicular de *Cucurbita moschata* en condiciones hidropónicas fue dependiente del tratamiento aplicado, y que tanto la suplementación con compuestos metálicos como con ácido nicotínico favorecieron, por mecanismos distintos, el desarrollo del sistema radicular.

Efecto combinado de compuestos metálicos y *Bacillus mycoides* sobre la tolerancia al estrés hídrico

Los resultados más sobresalientes del estudio se observaron cuando la inoculación bacteriana se combinó con los complejos metálicos. En las tres variables fisiológicas evaluadas, clorofila a, clorofila b y carotenoides, las plantas tratadas con Cu+B, Mn+B y Zn+B presentaron valores significativamente superiores al control, siendo la clorofila a el pigmento con la diferencia estadística más marcada de toda la investigación ($F = 38,09$; $p < 0,001$), seguida por los carotenoides ($F = 20,74$; $p < 0,001$) y por la clorofila b ($F = 10,99$; $p < 0,001$). Estos pigmentos desempeñan un papel esencial en la protección del aparato fotosintético: la clorofila a y la clorofila b participan directamente en la captación de energía lumínica, mientras que los carotenoides intervienen en la disipación del exceso de energía y en la neutralización de especies reactivas de oxígeno generadas durante el estrés hídrico. El incremento simultáneo y significativo de los tres pigmentos puede interpretarse, por tanto, como una respuesta adaptativa coordinada, orientada a preservar la funcionalidad fotosintética y a minimizar el daño oxidativo bajo condiciones de disponibilidad hídrica limitada.

Este hallazgo es consistente con lo reportado por Gupta et al. (2024), quienes señalan que compuestos metálicos como el cobre, el zinc y el manganeso participan en la activación de enzimas antioxidantes, entre ellas la superóxido dismutasa, la catalasa y las peroxidasas, favoreciendo la tolerancia de la planta frente a condiciones ambientales adversas. De manera similar, Liang et al. (2025) encontraron que la asociación entre PGPR y metálicos incrementó la acumulación de compuestos antioxidantes y mejoró la resistencia al déficit hídrico en cultivos hortícolas. Es importante precisar, sin embargo, que en el presente estudio el hierro (Fe), contemplado inicialmente entre los compuestos metálicos de interés, no fue evaluado experimentalmente, por lo cual las interpretaciones aquí discutidas se restringen



exclusivamente a cobre, zinc y manganeso; la inclusión del hierro en investigaciones futuras permitiría completar el panorama de los cuatro compuestos metálicos originalmente planteados.

El contraste entre los resultados obtenidos con y sin inoculación bacteriana, descrito en el capítulo de Resultados, resulta particularmente informativo y constituye la evidencia más sólida de todo el estudio: mientras que los complejos metálicos aplicados sin bacteria no modificaron significativamente ninguno de los tres pigmentos evaluados bajo estrés hídrico, su combinación con *B. mycoides* generó diferencias estadísticamente significativas en los tres, sin excepción. Este patrón, consistente y sin ambigüedades entre variables, indica que el efecto protector de los compuestos metálicos sobre el aparato fotosintético depende de manera determinante de la presencia simultánea de la bacteria, lo que respalda con solidez la existencia de una interacción sinérgica entre ambos factores, y no de un efecto meramente aditivo o independiente.

Ahora bien, incluso con esta evidencia fisiológica robusta, es necesario mantener una precisión importante sobre el alcance de esta interpretación: los hallazgos sobre clorofilas y carotenoides permiten afirmar, con un respaldo estadístico considerablemente más fuerte que el estimado inicialmente, que la combinación de *B. mycoides* con compuestos metálicos protegió de manera contundente el aparato fotosintético de *Cucurbita moschata* bajo déficit hídrico. Sin embargo, esta evidencia fisiológica no equivale, por sí sola, a una demostración integral de "tolerancia al estrés" en el sentido agronómico más amplio del término, ya que dicha noción exigiría evidencia adicional sobre el crecimiento físico y la acumulación de biomasa bajo la misma condición combinada de estrés e inoculación bacteriana. En este sentido, los resultados de longitud de raíz obtenidos en la Etapa 2, en condiciones óptimas de riego y sin inoculación bacteriana, mostraron que el cobre, el zinc y el manganeso favorecieron el desarrollo radicular de la planta, lo cual constituye una evidencia complementaria, aunque indirecta, del papel positivo de estos compuestos metálicos sobre el crecimiento. No obstante, el presente estudio no contó con registros estadísticamente consistentes de altura de planta, número de hojas, grosor de tallo o biomasa bajo la condición



específica de estrés hídrico combinado con inoculación bacteriana, por lo que la interpretación de una mejora integral en la tolerancia al estrés debe entenderse como una hipótesis fuertemente respaldada por la evidencia fisiológica, y no como una conclusión definitiva sobre el desempeño agronómico completo de la planta. Esta limitación se retoma en el apartado de Recomendaciones.

Específicamente, en el caso de la longitud de la raíz, los resultados sugieren que, bajo las condiciones de estrés hídrico evaluadas, los complejos metálicos no modificaron significativamente el desarrollo del sistema radical. Es posible que el déficit hídrico limitara el potencial de respuesta de la raíz, priorizando mecanismos fisiológicos asociados con la conservación del estado hídrico y el mantenimiento de la actividad fotosintética, antes que un incremento en el crecimiento radical. Esta respuesta es consistente con estudios que indican que, bajo condiciones de sequía, las plantas destinan una mayor proporción de recursos a mecanismos de tolerancia fisiológica y bioquímica, de modo que los cambios en la longitud de la raíz no siempre son estadísticamente evidentes. De acuerdo con Chieb y Gachomo (2023), las plantas sometidas a déficit hídrico activan inicialmente respuestas fisiológicas y bioquímicas, como la regulación del estado hídrico, la acumulación de osmólitos y el fortalecimiento del sistema antioxidante, mientras que las modificaciones en el crecimiento del sistema radical pueden no manifestarse de forma significativa, dependiendo de la intensidad del estrés y de la especie vegetal.

No obstante, la incorporación de *Bacillus mycoides* modificó este comportamiento, ya que en presencia de la bacteria sí se evidenciaron diferencias significativas en la longitud radical, particularmente en los tratamientos AN+B, Mn+B y Zn+B, lo que sugiere que la respuesta del crecimiento de la raíz dependió de la interacción entre la bacteria y los complejos metálicos más que de la aplicación de estos últimos de forma individual. Esta observación refuerza la hipótesis de un efecto sinérgico entre ambos bioestimulantes bajo condiciones de déficit hídrico.

Con esta precisión, puede afirmarse que *Bacillus mycoides*, en combinación con cobre, zinc y manganeso, promovió el mantenimiento de los tres pigmentos fotosintéticos y



la longitud radicular de *Cucurbita moschata* bajo déficit hídrico, siendo la clorofila a el indicador con la respuesta más contundente de toda la investigación. Estos hallazgos confirman una interacción sinérgica clara entre la bacteria y los compuestos metálicos evaluados, orientada al mantenimiento del sistema fotosintético, la longitud de raíz y al fortalecimiento de los mecanismos antioxidantes, y sientan una base sólida, aunque no concluyente en todos los frentes agronómicos, para el desarrollo de estrategias de bioestimulación sostenible en cultivos hortícolas expuestos a condiciones de disponibilidad hídrica limitada.

Conclusión

La aplicación de complejos metálicos de ácido nicotínico con cobre, zinc y manganeso, así como la inoculación con la bacteria *Bacillus mycoides*, influyeron de manera diferenciada sobre la respuesta fisiológica de *Cucurbita moschata* bajo condiciones de estrés hídrico. Es importante precisar que el hierro (Fe), contemplado inicialmente entre los compuestos metálicos de interés del estudio, no llegó a evaluarse experimentalmente en ninguna de las etapas desarrolladas, por lo que las conclusiones aquí planteadas se circunscriben exclusivamente al cobre, el zinc, el manganeso y, de manera comparativa, al ácido nicotínico.

Durante la etapa de germinación, la mayoría de los tratamientos no mostraron diferencias estadísticamente significativas en la longitud de raíz, con excepción del manganeso, que sí generó un efecto significativo sobre esta variable. Este resultado sugiere que, en las fases más tempranas del desarrollo, la respuesta de la planta a la disponibilidad exógena de compuestos metálicos es todavía limitada, probablemente porque la semilla depende en mayor medida de sus reservas internas que de los nutrientes disponibles en el medio externo.

En la etapa de hidroponía, el panorama cambió de manera relevante: el manganeso, el cobre y el ácido nicotínico mostraron efectos estadísticamente significativos sobre la longitud del sistema radicular, mientras que el zinc mantuvo un comportamiento homogéneo entre concentraciones, replicando el patrón observado durante la germinación. Este hallazgo indica que la sensibilidad de *Cucurbita moschata* a los compuestos metálicos evaluados se incrementa conforme avanza el desarrollo de la plántula, y respalda la importancia agronómica del manganeso y el cobre como promotores del crecimiento radicular en etapas más avanzadas del cultivo.

Respecto a la inoculación con *Bacillus mycoides* evaluada de manera individual, los resultados evidenciaron un efecto moderado y desigual entre pigmentos: favoreció levemente la conservación de la clorofila b frente al control, pero no modificó de manera estadísticamente apreciable la clorofila a ni los carotenoides cuando se aplicó sin compuestos metálicos. Este

panorama cambió de forma contundente al combinar la bacteria con los complejos metálicos: la interacción entre *B. mycoides* y el cobre, el zinc y el manganeso generó incrementos estadísticamente significativos en los tres pigmentos evaluados, siendo la clorofila a la variable con la diferencia más marcada de toda la investigación ($F = 38,09$; $p < 0,001$), seguida de los carotenoides ($F = 20,74$; $p < 0,001$) y de la clorofila b ($F = 10,99$; $p < 0,001$). El contraste entre los tratamientos con y sin inoculación bacteriana, descrito en el capítulo de Resultados, respalda con solidez la existencia de una interacción sinérgica entre *B. mycoides* y los compuestos metálicos evaluados, y no de un efecto meramente aditivo entre ambos factores, ya que los complejos metálicos aplicados sin la bacteria no generaron diferencias significativas en ninguno de los tres pigmentos.

Es necesario señalar, sin embargo, que estas conclusiones, aunque respaldadas por un efecto estadístico considerablemente robusto sobre la conservación de los pigmentos fotosintéticos, no permiten por sí solas sostener una afirmación general sobre el "crecimiento" o la "tolerancia integral al estrés hídrico" de la planta, ya que dicha noción exigiría evidencia adicional sobre variables agronómicas como la biomasa, la altura o el grosor del tallo bajo la condición específica de estrés combinada con inoculación bacteriana, registros que no se obtuvieron de manera estadísticamente consistente en el presente estudio. Lo que sí puede afirmarse, con un respaldo directo y contundente en los datos obtenidos, es que *Bacillus mycoides*, en combinación con cobre, zinc y manganeso, protegió de manera estadísticamente significativa los tres pigmentos fotosintéticos evaluados de *Cucurbita moschata* bajo déficit hídrico. Este hallazgo, junto con la evidencia independiente de que estos mismos compuestos metálicos favorecieron el crecimiento radicular en la etapa hidropónica sin estrés, respalda de manera sólida, aunque no concluyente en todos los frentes agronómicos, el potencial de esta combinación como estrategia de bioestimulación sostenible para cultivos hortícolas expuestos a condiciones de disponibilidad hídrica limitada.



Recomendaciones

A partir de los hallazgos y limitaciones identificadas en la presente investigación, se plantean las siguientes recomendaciones, dirigidas a distintos actores interesados en la continuidad y aplicación de estos resultados:

Al Semillero de Investigación y al Programa de Microbiología de la Universidad Popular del Cesar:

- **Estandarizar técnicamente la cuantificación del estrés hídrico en futuros ensayos.** En el presente estudio, la condición de estrés hídrico se estableció mediante un criterio fenotípico la observación de marchitez temporal, caracterizada por la pérdida reversible de la turgencia foliar, verificado operacionalmente por el mismo investigador a la misma hora del día para reducir la subjetividad entre repeticiones. Sin embargo, este criterio no sustituye una medición instrumental directa del estado hídrico del sustrato o de la planta, lo que constituye una limitación metodológica del diseño experimental. Se recomienda explícitamente que investigaciones futuras incorporen la determinación gravimétrica del porcentaje exacto de capacidad de campo (CC) al que se mantiene el sustrato durante el periodo de estrés, o bien la medición directa del potencial hídrico foliar mediante cámara de presión tipo Scholander, con el fin de dotar al protocolo de un estándar técnico cuantitativo, objetivo y plenamente replicable por otros grupos de investigación, superando así la dependencia de un indicador visual y garantizando la comparabilidad de los niveles de estrés hídrico entre distintos estudios y condiciones experimentales.
- Evaluar experimentalmente el efecto del hierro (Fe) en combinación con *Bacillus mycoides*, dado que este micronutriente fue contemplado en los objetivos iniciales de la investigación, pero no llegó a evaluarse en ninguna etapa del estudio, lo que representa un vacío que debe cerrarse para completar el panorama de los cuatro compuestos metálicos originalmente planteados (Cu, Zn, Fe y Mn).



- Complementar el diseño experimental con el registro sistemático de variables agronómicas como la altura de la planta, el número de hojas, el grosor del tallo y la biomasa fresca y seca, medidas bajo la condición combinada de estrés hídrico e inoculación bacteriana, con el fin de confirmar, a nivel de crecimiento físico, el efecto protector que ya se demostró de manera contundente a nivel de pigmentos fotosintéticos, y así sustentar con mayor solidez conclusiones integrales sobre la tolerancia al estrés.
- Incrementar el tiempo de evaluación de la planta y desarrollar estudios en etapas fenológicas más avanzadas, como floración y fructificación, con el fin de determinar si el marcado efecto bioestimulante de los compuestos metálicos combinados con *B. mycoides*, observado aquí sobre clorofila a, clorofila b y carotenoides, se mantiene, se acentúa o se modifica conforme avanza el ciclo de vida del cultivo.
- Incluir variables fisiológicas y bioquímicas adicionales, como el contenido de prolina, la actividad de enzimas antioxidantes y el contenido relativo de agua, con el propósito de comprender con mayor profundidad los mecanismos que explican el fuerte efecto protector observado sobre los pigmentos fotosintéticos.
- Comparar el comportamiento de *Bacillus mycoides* frente a otras bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) disponibles en la colección del Grupo de Microbiología Agrícola y Ambiental, con el propósito de identificar microorganismos con igual o mayor capacidad bioestimulante para *Cucurbita moschata*.

A investigadores y grupos de trabajo en fisiología vegetal y biotecnología agrícola:

- Evaluar un rango más amplio y continuo de concentraciones de los complejos metálicos utilizados en este estudio, con el fin de determinar con mayor precisión las dosis óptimas que favorezcan el desarrollo de la planta sin generar efectos adversos, dado el comportamiento no lineal observado para el manganeso y el cobre.
- Realizar ensayos bajo condiciones de invernadero y de campo abierto, incorporando desde el diseño experimental un protocolo cuantitativo de estrés hídrico (capacidad



de campo o potencial hídrico), que permitan validar si la marcada respuesta sinérgica observada entre *B. mycoides* y los compuestos metálicos, bajo condiciones controladas de laboratorio, se mantiene en escenarios productivos reales, con mayor variabilidad ambiental.

A los agricultores y productores de auyama de la región Caribe colombiana:

- Considerar, una vez validados estos resultados en condiciones de campo, la incorporación gradual de bioestimulantes basados en la combinación de compuestos metálicos (particularmente cobre y manganeso) con bacterias promotoras del crecimiento vegetal como *Bacillus mycoides*, como una alternativa sostenible y de bajo costo frente a las prácticas convencionales de fertilización química, especialmente en zonas del departamento del Cesar afectadas por estrés hídrico recurrente.

Bibliografía

Acurio, R. D., Gualoto, K., Carlosama, S., & Naranjo, E. (2020). *Evaluación de Bacillus spp. como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) en brócoli (Brassica oleracea var. italica) y lechuga (Lactuca sativa)*. <http://hdl.handle.net/20.500.12324/36399>

Ahmad, H. M., Fiaz, S., Hafeez, S., Zahra, S., Shah, A. N., Gul, B., Aziz, O., Mahmood-Ur-Rahman, Fakhar, A., Rafique, M. R., Chen, Y., Yang, S. H., & Wang, X. (2022). Plant growth-promoting rhizobacteria eliminate the effect of drought stress in plants: A review. *Frontiers in Plant Science*, 13, 875774. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.875774>

Ali, B., Wang, X., Saleem, M. H., Azeem, M. A., Afridi, M. S., Nadeem, M., Ghazal, M., Batool, T., Qayyum, A., Alatawi, A., & Ali, S. (2022). *Bacillus mycoides* PM35 reinforces photosynthetic efficiency, antioxidant defense, expression of stress-responsive genes, and ameliorates the effects of salinity stress in maize. *Life*, 12(2), 219. <https://doi.org/10.3390/life12020219>

Ali, S., Akhtar, M. S., Siraj, M., & Zaman, W. (2024). Molecular communication of microbial plant biostimulants in the rhizosphere under abiotic stress conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(22), 12424. <https://doi.org/10.3390/ijms252212424>

Alloway, B. J. (2022). *Micronutrients and crop production: An introduction*. Springer.

Ambrosini, A., Stefanski, T., Lisboa, B. B., Beneduzi, A., Vargas, L. K., & Passaglia, L. M. P. (2015). Genome sequence of *Bacillus mycoides* B38V, a growth-promoting bacterium of sunflower. *Genome Announcements*, 3(2), e00164-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00164-15>

Badía, M. M. R., Bello-González, M. Á., Rocafull, Y. R., Lugo-Moya, D., & Sánchez, J. R. (2020). Utilización de cepas de *Bacillus* como promotores de crecimiento en hortalizas comerciales. *Acta Agronómica*, 69(1), 54-60. <https://doi.org/10.15446/acag.v69n1.79606>

Beleño-Carrillo, J., Gómez-Gómez, L., & Valero-Valero, N. O. (2022). *Bacillus mycoides* y ácidos húmicos como bioestimulantes de frijol caupí bajo estrés por salinidad. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1537043>

Brdar-Jokanović, M., Kiproviski, B., Kebert, M., Matić, M., & Sikora, V. (2025). Nutritional quality and agronomic yield of Cucurbita moschata hybrid combinations. *Contemporary Agriculture*, 74(1-2), 117-122. <https://doi.org/10.2478/contagri-2025-0014>

Cakmak, I. (2020). Micronutrients in crop production: Role in stress tolerance and physiological functions. *Plant and Soil*, 446, 1-24. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04345-2>

Castaño, R., Pérez, J., & Gómez, L. (2021). Mecanismos de acción de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y su impacto en la agricultura sostenible. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 23(2), 45-60.

Chieb, M., & Gachomo, E. W. (2023). The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. *BMC Plant Biology*, 23(1), 407. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04403-8>

Cohen, A. C., Travaglia, C. N., Bottini, R., & Piccoli, P. N. (2009). Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic Azospirillum in the alleviation of drought effects in maize. *Botany*, 87(5), 455-462. <https://doi.org/10.1139/B09-023>

Congreso de la República de Colombia. (1974). *Decreto-Ley 2811 de 1974, por el cual se dicta el Código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente*. Diario Oficial No. 34.243. <https://www.suin-juriscol.gov.co/viewDocument.asp?ruta=Decretos/1769892>

Congreso de la República de Colombia. (1991). *Constitución Política de Colombia*. <http://www.secretariasenado.gov.co/index.php/constitucion-politica>

Congreso de la República de Colombia. (1993). *Ley 99 de 1993, por la cual se crea el Ministerio del Medio Ambiente, se reordena el Sector Público encargado de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables, se organiza el Sistema Nacional Ambiental (SINA) y se dictan otras disposiciones*. Diario Oficial No. 41.146. <https://www.minambiente.gov.co/wp-content/uploads/2021/08/ley-99-1993.pdf>

Congreso de la República de Colombia. (1994). *Ley 165 de 1994, por medio de la cual se aprueba el "Convenio sobre la Diversidad Biológica", hecho en Río de Janeiro el 5 de junio de 1992*. Diario Oficial No. 41.589. <https://www.minambiente.gov.co/wp-content/uploads/2021/06/Ley-165-de-1994.pdf>

Congreso de la República de Colombia. (2002). *Ley 740 de 2002, por medio de la cual se aprueba el Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la Diversidad Biológica*. Diario Oficial No. 44.816.

Congreso de la República de Colombia. (2017). *Ley 1876 de 2017, por medio de la cual se crea el Sistema Nacional de Innovación Agropecuaria y se dictan otras disposiciones*. Diario Oficial No. 50.461. <https://www.suin-juriscol.gov.co/viewDocument.asp?id=30034416>

Congreso de la República de Colombia. (2022). *Ley 2183 del 6 de enero de 2022, por medio de la cual se constituye el Sistema Nacional de Insumos Agropecuarios, se establece la Política Nacional de Insumos Agropecuarios, se crea el Fondo de Acceso a los Insumos Agropecuarios y se dictan otras disposiciones*. Diario Oficial No. 51.917. <https://dapre.presidencia.gov.co/normativa/normativa/LEY%202183%20DEL%206%20DE%20ENERO%20DE%202022.pdf>

Correa Álvarez, E. M., Yacomelo Hernández, M. J., León Pacheco, R. I., Orozco Guerrero, A. R., & Silva Acosta, G. E. (2019). *Modelo productivo de ahuyama para la región Caribe colombiana*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). <https://hdl.handle.net/20.500.12324/35059>



Cubillos-Hinojosa, J., & Valero, N. (2022). *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal en maracuyá amarilla (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener). *Bioagro*, 34(2), 137-146.

Dey, M. G., Langenfeld, N. J., & Bugbee, B. (2023). Copper can be elevated in hydroponics and peat-based media for potential disease suppression: Concentration thresholds for lettuce and tomato. *HortScience*, 58(4), 459-468.
<https://doi.org/10.21273/HORTSCI17048-22>

El-Shazoly, R. M., Othman, A. A., Zaheer, M. S., Al-Hossainy, A. F., & Abdel-Wahab, D. A. (2025). Zinc oxide seed priming enhances drought tolerance in wheat seedlings by improving antioxidant activity and osmoprotection. *Scientific Reports*, 15, 5079.
<https://doi.org/10.1038/s41598-025-86824-z>

Fadiji, A. E., Santoyo, G., Yadav, A. N., & Babalola, O. O. (2022). Efforts towards overcoming drought stress in crops: Revisiting the mechanisms employed by plant growth-promoting bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 13, 962427.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.962427>

Farooq, M., Ma, W., Shen, S., & Gu, A. (2022). Underlying biochemical and molecular mechanisms for seed germination. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8502.
<https://doi.org/10.3390/ijms23158502>

García, K. (2025). *Evaluación de parámetros fisiológicos en la germinación de semillas de Cucurbita moschata Duchesne ex Poir. en el departamento de Córdoba, Colombia* [Tesis de pregrado, Universidad de Córdoba].
<https://repositorio.unicordoba.edu.co/entities/publication/61bc92bc-12c0-4c17-9f7b-e4a1013b0d8f>

Goncalves, B., Santos, M., Silva, V., Rodrigues, A., Oliveira, I., Lopes, T., Sujeeth, N., & Guinan, K. J. (2025). Biostimulants in fruit crop production: Impacts on growth, yield, and fruit quality. *Horticulturae*, 11(12), 1452. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11121452>

Guardiola-Márquez, C. E., López-Mena, E. R., Segura-Jiménez, M. E., Gutierrez-Marmolejo, I., Flores-Matzumiya, M. A., Mora-Godínez, S., Hernández-Brenes, C., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2023). Development and evaluation of zinc and iron nanoparticles functionalized with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and microalgae for their application as bio-nanofertilizers. *Plants*, 12(20), 3657. <https://doi.org/10.3390/plants12203657>

Guerra Tamara, B., Torregroza-Espinosa, A. C., Pinto Osorio, D., Moreno Pallares, M., Corrales Paternina, A., & Echeverría González, A. (2022). Implications of irrigation water quality in tropical farms. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 8(1), 75-86. <https://doi.org/10.22034/GJESM.2022.01.06>

Gupta, R., Verma, N., & Tewari, R. K. (2024). Micronutrient deficiency-induced oxidative stress in plants. *Plant Cell Reports*, 43(9), 213. <https://doi.org/10.1007/s00299-024-03297-6>

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M., & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681. <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>

Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). *The water-culture method for growing plants without soil* (Circular 347). California Agricultural Experiment Station, University of California.

Hopkins, W. G., & Hüner, N. P. A. (2023). *Introduction to plant physiology* (5th ed.). Wiley.

Housecroft, C. E., & Sharpe, A. G. (2018). *Inorganic chemistry* (5th ed.). Pearson.

Instituto Colombiano Agropecuario. (2020). *Resolución 068370 del 27 de mayo de 2020, por la cual se establecen los requisitos para el registro de productor, productor por contrato, envasador, importador y Departamentos Técnicos de Ensayos de Eficacia*

Agronómica de Bioinsumos para uso agrícola, así como los requisitos para el registro de Bioinsumos para uso agrícola.

<https://www.ica.gov.co/getattachment/Areas/Agricola/Servicios/Fertilizantes-y-Bio-insumos-Agricolas/Resolucion-068370-del-27-de-mayo-de-2020.pdf.aspx?lang=es-CO>

Jacob, R. H., Afify, A. S., & Shanab, S. M. (2022). Chelated amino acids: Biomass sources, preparation, properties, and biological activities. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02333-3>

Lee, S. (2024). Plant growth-promoting rhizobacterium roles under drought stress: Nutrient solubilization, uptake and enhanced plant resilience. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1430546. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1430546>

Liang, R., Zhong, L., Huang, Z., Wang, W., Lu, G., & Zhu, T. (2025). Plant growth-promoting rhizobacteria isolated from natural habitats promote the growth of *Elymus sibiricus* and enhance its resistance to abiotic stress. *Plant-Environment Interactions*. <https://doi.org/10.1002/pei3.70106>

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)

Lilay, G. H., Persson, D. P., Castro, P. H., Liao, F., Alexander, R. D., Aarts, M. G. M., & Husted, S. (2024). Linking the key physiological functions of essential micronutrients to their deficiency symptoms in plants. *New Phytologist*, 242(3), 881-902. <https://doi.org/10.1111/nph.19645>

Morales, A. E. (2022). *Caracterización del frijol X'Pelón (Vigna unguiculata [L.] Walp) y su biofortificación con zinc mediada por hongos micorrízicos arbusculares* [Tesis].

Muñoz, D. B. (2017). *Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones*. <https://idus.us.es/handle/11441/65140>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2019). *El trabajo de la FAO sobre el cambio climático*.
<https://www.fao.org/publications/card/es/c/CA7126ES/>

Pinilla, Á., & Surley, N. (2017). El cultivo de auyama (*Cucurbita moschata*) híbrido Bárbara: un modelo demostrativo y productivo a corto plazo en la vereda La Unión del municipio de Puerto Lleras, Meta. *Revista Latinoamericana de Etnomatemática*.
<http://revista.etnomatematica.org/index.php/RevLatEm/article/view/36>

Posadas, Y. (2015). *Bioestimulantes microbianos y la biofortificación en el crecimiento de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)* [Tesis]. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/12466>

Presidencia de la República de Colombia. (2005). *Decreto 4525 de 2005, por el cual se reglamenta parcialmente el Capítulo III de la Ley 740 de 2002*.
<https://www.ica.gov.co/getattachment/007e317b-14ec-4ede-8440-b56ac574f6cc/4525D2005.aspx>

Presidencia de la República de Colombia. (2015). *Decreto 1071 de 2015, Decreto Único Reglamentario del Sector Administrativo Agropecuario, Pesquero y de Desarrollo Rural*.
<https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=78235>

Raj, A. (2023). Review article on hydroponic crop cultivation and nutrient solutions. *International Journal of Plant & Soil Science*.

Samota, M. K., Awana, M., Krishnan, V., Kumar, S., Tyagi, A., Pandey, R., Amitha Mithra, S. V., & Singh, A. (2024). A novel micronutrients and methyl jasmonate cocktail of elicitors via seed priming improves drought tolerance by mitigating oxidative stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Protoplasma*, 261(3), 553-570. <https://doi.org/10.1007/s00709-023-01914-x>

Treftz, C., & Omaye, S. T. (2016). Comparison between hydroponic and soil systems for growing strawberries in a greenhouse. *International Journal of Agronomy*, 2016, 7328651.
<https://doi.org/10.1155/2016/7328651>



Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & De Los Santos-Villalobos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>

Yang, X., Li, Q., Zhang, Y., He, S., Li, C., Xu, X., Liu, Y., & Yao, T. (2026). Construction of drought-resistant microbial consortium and effect on alfalfa growth under drought stress. *Plants*, 15(5), 744. <https://doi.org/10.3390/plants15050744>

Zhang, X., Wang, H., Nie, H., Zhang, L., & Zhang, P. (2021). Physicochemical, nutritional and functional properties of *Cucurbita moschata*: A review. *Food Science & Nutrition*, 9(3), 1293-1308. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2092>

Anexos

Anexo 1. Ensayo de germinación Ácido Nicotínico 1



Anexo 2. Ensayo de germinación Zinc 1/2



Anexo 3. Ensayo de germinación Manganeso 1/4

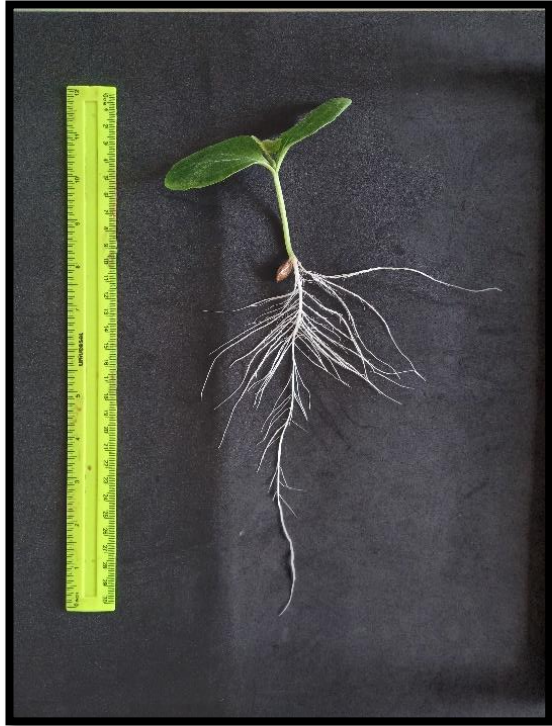


Anexo 4. Ensayo de germinación Cobre 2

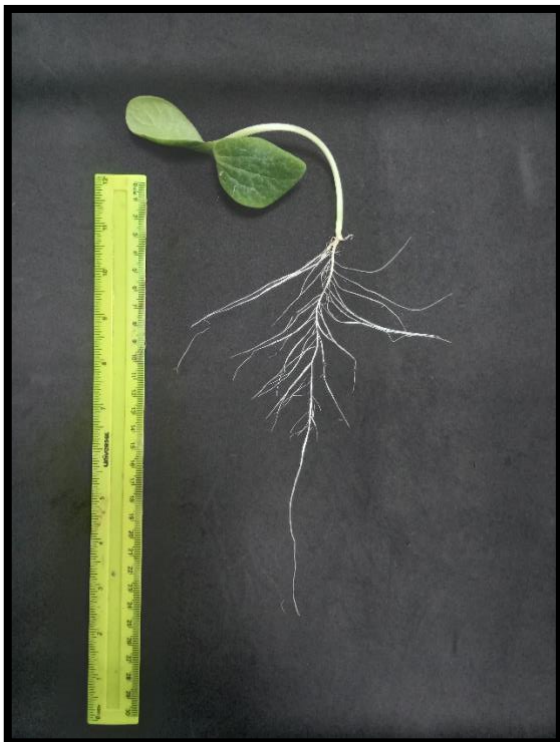




Anexo 5. Ensayo de Hidroponía (Ácido Nicotínico 1/2)

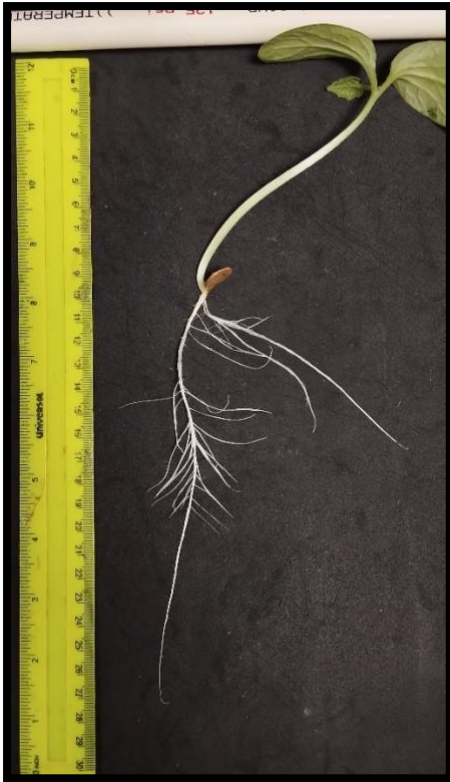


Anexo 6. Ensayo de Hidroponía (Zinc 1/2)

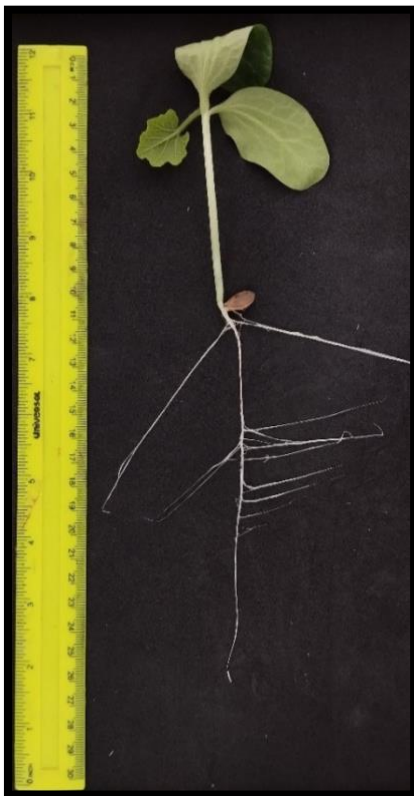




Anexo 7. Ensayo de Hidroponía (Manganeso 2)



Anexo 8. Ensayo de Hidroponía (Cobre 1)





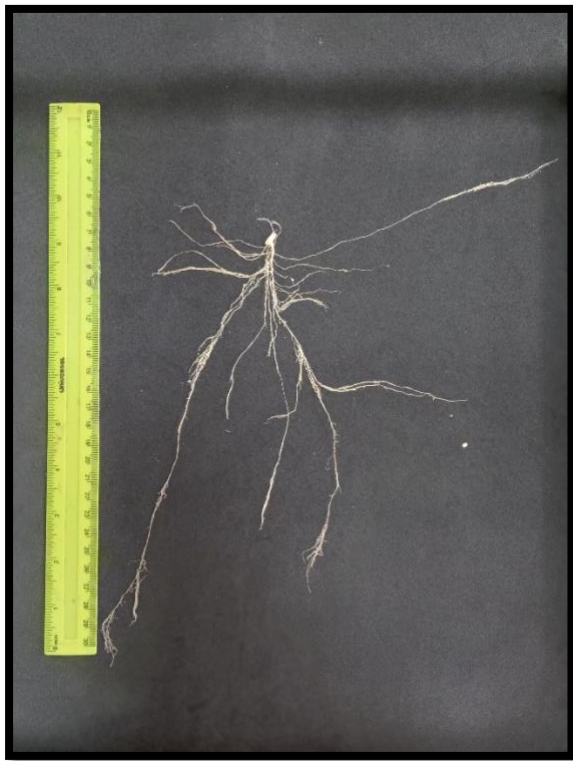
Anexo 9. Estrés hídrico sin bacteria (Ácido Nicotínico)



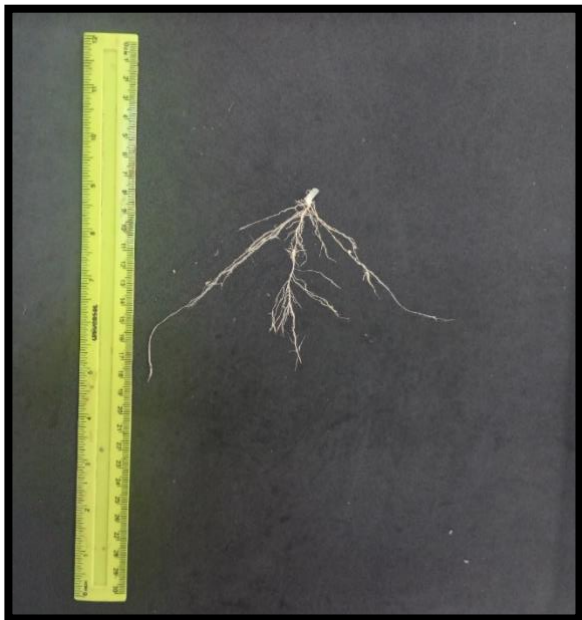
Anexo 10. Estrés hídrico sin bacteria (Zinc)



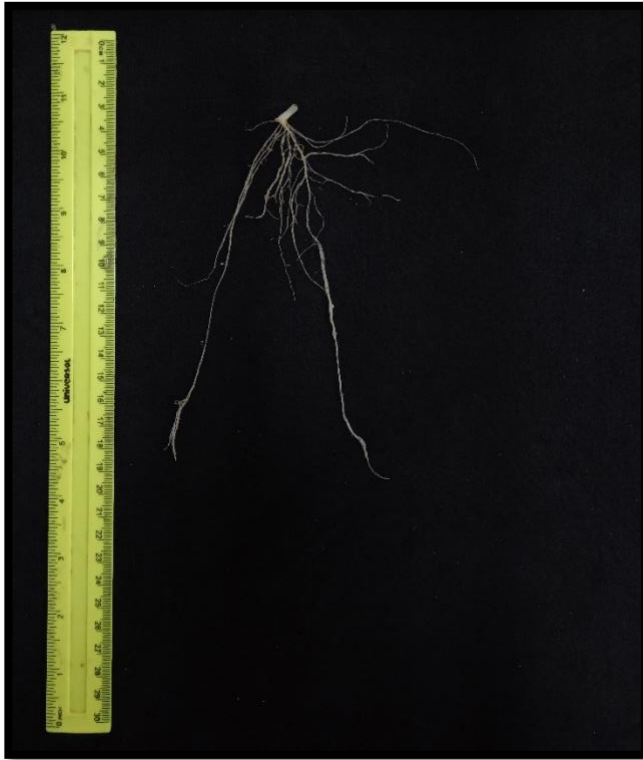
Anexo 11. Estrés hídrico sin bacteria (Manganeso)



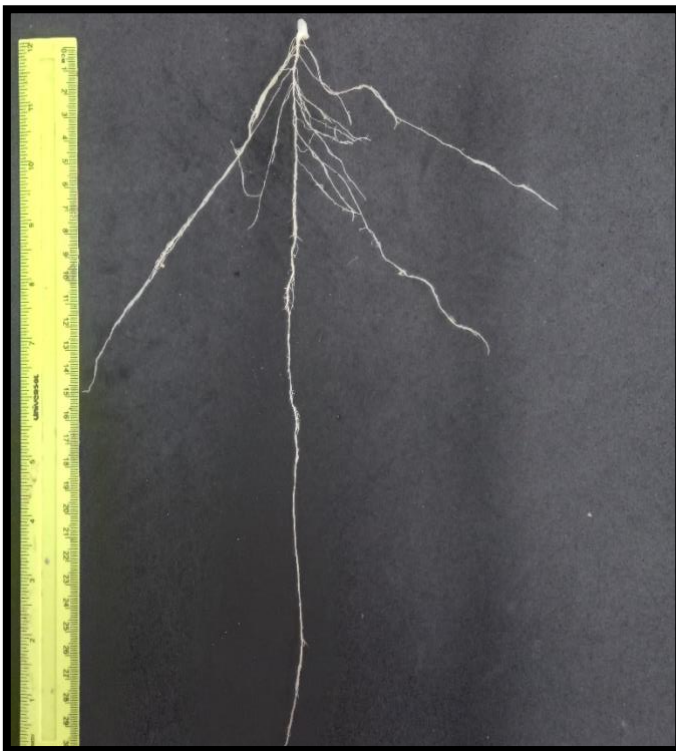
Anexo 12. Estrés hídrico sin bacteria (Cobre)



Anexo 13. Estrés hídrico + bacteria (Ácido Nicotínico)



Anexo 14. Estrés hídrico + bacteria (Zinc)





Anexo 15. Estrés hídrico + bacteria (Manganeso)



Anexo 16. Estrés hídrico + bacteria (Cobre)

