



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

## FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

### CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

#### PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**Título:**

---

**IDENTIFICACIÓN DE COMUNIDADES BACTERIANAS Y GRUPOS  
FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum  
tuberosum*). VAR. SUPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3100 msnm  
Cuturivi, COTOPAXI, 2022**

---

Proyecto de investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniero Agrónomo

**Autor:**

Armas Ochoa Galo Sebastian

**Director:**

Chasi Vizuete Paolo Wilman.Ing. MSc.

**LATACUNGA - ECUADOR**

**Marzo 2022**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Galo Sebastian Armas Ochoa, con cédula de ciudadanía No. 050403905-8, declaro ser autor del presente proyecto de investigación: **"Identificación de comunidades bacterianas y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*). Var super chola en el piso altitudinal de 3100 msnm, Cuturivi, Cotopaxi 2021"** siendo el Ingeniero. M.Sc. Wilman Paolo Chasi Vizúete, Tutor del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 21 de marzo del 2022.

  
Armas Ochoa Galo Sebastian  
Estudiante  
CC: 050403905-8

  
Ing. M.Sc. Wilman Paolo Chasi Vizúete  
Docente Tutor  
CC: 0502409725

## CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **ARMAS OCHOA GALO SEBASTIAN**, identificado con cédula de ciudadanía **0504039058**, de estado civil soltero a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **EL CESIONARIO** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.- EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Ingeniería Agronómica**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“Identificación de comunidades bacterianas y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*). Var super chola en el piso altitudinal de 3100 msnm, Cuturivi, Cotopaxi 2022”** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

### **Historial académico.-**

Inicio de la carrera: Abril 2017 - Agosto 2017

Finalización de la carrera: Octubre 2021 - Marzo 2022

Aprobación en Consejo Directivo. - 7 de Enero del 2022

Tutor.- Ing. M.Sc. Wilman Paolo Chasi Vizuete

Tema: **“Identificación de comunidades bacterianas y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*). Var super chola en el piso altitudinal de 3100 msnm, Cuturivi, Cotopaxi 2022”**

**CLÁUSULA SEGUNDA.- LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

**CLÁUSULA TERCERA.-** Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

**CLÁUSULA CUARTA.- OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

**CLÁUSULA QUINTA.-** El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

**CLÁUSULA SEXTA.-** El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

**CLÁUSULA SÉPTIMA.- CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.-** Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

**CLÁUSULA OCTAVA.- LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.-** **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **EL CEDENTE** en forma escrita.

**CLÁUSULA NOVENA.-** El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

**CLÁUSULA DÉCIMA.-** En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

**CLÁUSULA UNDÉCIMA.-** Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 21 días del mes de Marzo del 2022.

  
Galo Sebastian Armas Ochoa  
**EL CEDENTE**

In. Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez  
**LA CESIONARIA**

## **AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

**“IDENTIFICACIÓN DE COMUNIDADES BACTERIANAS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), VAR. SUPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3100 MSNM, CUTURIVI, COTOPAXI, 2022”** de Armas Ochoa Galo Sebastian, de la carrera de Ingeniería Agronómica, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 21 de marzo del 2022



Ing. M.Sc. Wilman Paolo Chasi Vizquete

**DOCENTE TUTOR**

**CC: 0502409725**

## AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el postulante: Armas Ochoa Galo Sebastian, con el título de Proyecto de Investigación: **“IDENTIFICACIÓN DE COMUNIDADES BACTERIANAS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), VAR. SÚPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3100 MSNM, CUTURIVI, COTOPAXI, 2022”**, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 21 de marzo del 2022



Lector 1 (Presidente/a)

Ing. Mg. Jiménez Jácome Cristian

CC: 0501946263



Lector 2

Ing. M.Sc Molina Álvarez Richad

CC: 1205974627



Lector 3

Ing.Mg. Francisco Hernán Chancusig

CC: 0501883920

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero expresar mi gratitud a mi familia que ha sido mi pilar fundamental y apoyo incondicional, sabiéndome guiar día a día en mi vida, a mi padre que con sus consejos de vida me ha enseñado siempre a luchar por mis metas a cumplir, a mi madre enseñándome a ser una persona honesta e humilde a pesar de todas las circunstancias, a mi hermano que ha sido parte de los buenos y malos momentos de la vida universitaria.

A mi tutor y maestros por compartir sus amplios conocimientos y experiencias en un aula de clases al largo de mi carrera, por ser pioneros en enriquecer mis conocimientos profesionales.

Galo Sebastian Armas Ochoa



## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a mi madre Eyda Estefania Ochoa Correa y mi padre Jorge Trajano Armas Pazmiño por ser el pilar fundamental, quienes con gran esfuerzo hicieron lo posible para que culminase mi formación académica hasta finalizar mi carrera universitaria demostrándome cariño y apoyo incondicional sin importar los obstáculos que se presentaron al largo del camino.

A mi hermano Jonathan Bryan Armas Ochoa que siempre estuvo a mi lado en los momentos más valiosos de mi vida.

Galo Sebastian Armas Ochoa

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

## FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

**TITULO:** “IDENTIFICACIÓN DE COMUNIDADES BACTERIANAS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), VAR. SÚPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3100 MSNM, CUTURIVI, COTOPAXI, 2022”

**AUTOR:** Armas Ochoa Galo Sebastian

### RESUMEN

La presente investigación se realizó en la localidad de Cuturivi, provincia de Cotopaxi teniendo como objetivo identificar comunidades bacterianas y determinar los grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa en la variedad de super chola (*solanum tuberosum*) a 3100 msnm, para la determinación de los diferentes grupos funcionales se utilizó la metodología de (Bernal, 2015), donde se utiliza los medios de cultivo como: Agar Nutritivo (Microbiota Total), Rosa de Bengala (Población total de Hongos), Agar Ramos Callao (Solubilizadores de fósforo), B de King (Pseudomonas), Agar Extracto de suelo (Bacterias Celulíticas), Watanabe (Fijadores de nitrógeno) y Agar Caseína (Actinomicetos). Para la identificación bacteriana se realizó mediante secuenciación del ARNr 16S en suelo, mediante la Secuenciación de tercera generación mediante nanoporos (Oxford Nanopore Technologies) y Adicional para conocer el estado de composición del suelo se realizó un análisis fisicoquímico en el laboratorio del INIAP.

Con los datos se obtuvo que en este piso altitudinal los géneros con más presencia son las Arenimonas con 2,530 lecturas acumuladas, seguidas de Lactobacillus con 860 lecturas. Estos géneros están relacionados con la fijación de nitrógeno en el suelo, lo que concuerda con el análisis físico donde obtuvimos valores de 150 ppm de nitrógeno considerado alto.

Por cada grupo se estableció cinco repeticiones en suelo y raíz más un testigo ciego, donde se estableció, número de colonias  $\text{gr}^{-1}$  y UFC  $\text{gr}^{-1}$ . El grupo funcional con mayor número de colonias fue bacterias fijadoras de nitrógeno con  $1,18 \cdot 10^8$  colonias  $\text{gr}^{-1}$  en suelo, y en raíz  $1,06 \cdot 10^8$  colonias  $\text{gr}^{-1}$ , seguido de bacterias solubilizadoras de fósforo con  $2,08 \cdot 10^{12}$  ufc  $\text{gr}^{-1}$ , en suelo y raíz con microbiota total con  $9,16 \cdot 10^{11}$  ufc  $\text{gr}^{-1}$  respectivamente. Teniendo en cuenta que también hay la presencia en suelo y raíz de los demás grupos en estudio.

Existe una relación entre las comunidades bacterianas presentes con los grupos funcionales de mayor presencia y los resultados de niveles de elementos que tiene la rizosfera de la papa.

**Palabras clave:** Comunidades bacterianas, grupos funcionales, metagenómicos.

## TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

### FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES

**TITLE:** “IDENTIFICATION OF BACTERIAL COMMUNITIES AND FUNCTIONAL GROUPS ASSOCIATED WITH THE RHIZOSPHERE OF POTATO (*Solanum tuberosum*), VAR. “SUPER CHOLA” IN THE ALTITUDINAL TIER OF 3100 MASL, CUTURIVI, COTOPAXI, 2022.”

**AUTHOR:** Armas Ochoa Galo Sebastian

### ABSTRACT

This research aimed to identify bacterial communities and determine the functional groups associated with the rhizosphere of the potato in the “Super Chola” variety (*Solanum tuberosum*) at 3100 masl to determine the different functional groups. The methodology of (Bernal, 2015) was used in the locality of Cuturivi, Cotopaxi Province, where culture media are used such as Nutrient Agar (Total Microbiota), Rose Bengal (Total Population of Fungi), Ramos Callao Agar (Phosphorus solubilizers), King's B (*Pseudomonas*), Soil Extract Agar (Cellulitic Bacteria), Watanabe (Nitrogen Fixers) and Casein Agar (Actinomycetes). Bacterial identification was performed by sequencing 16S rRNA in soil using third-generation sequencing with nanopores (Oxford Nanopore Technologies). Additionally, a physicochemical analysis was carried out at the INIAP laboratory to know the state of soil composition. From the data, it was obtained that in this altitudinal tier, the genre with the most significant presence is *Arenimonas* with 2,530 accumulated readings, followed by *Lactobacillus* with 860 readings. These genres are related to nitrogen fixation in the soil, which is consistent with the physical analysis where values of 150 ppm of nitrogen were obtained, considered high.

Five repetitions were established in soil and root plus a blind control for each group, where the number of colonies \*gr-1 and CFU \*gr -1 was established. The functional group with the highest number of colonies was nitrogen-fixing bacteria with  $1.18 \cdot 10^8$  colonies\*gr-1 in the soil, and  $1.06 \cdot 10^8$  colonies\*gr-1 in the root, followed by phosphorus-solubilizing bacteria with  $2,08 \cdot 10^{12}$

cfu\*gr-1, in soil and root with total microbiota with  $9.16 \cdot 10^{11}$  cfu\*gr-1 respectively. So, there is also the presence in soil and root of the other groups under study. There is a relationship between the bacterial communities present with the functional groups of greater presence and the results of the levels of elements that the potato rhizosphere has.

**Keywords:** Bacterial communities, functional groups, metagenomics.

## INDICE DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vi
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	vii
AGRADECIMIENTO.....	viii
DEDICATORIA .....	ix
RESUMEN.....	x
INDICE DE CONTENIDO .....	xii
1. INFORMACIÓN GENERAL .....	1
<b>1.1.1. Línea:</b> .....	2
<b>1.1.2 Sub líneas de investigación:</b> .....	2
2. DESCRPCION DEL PROYECTO.....	3
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
4. JUSTIFICACIÓN.....	5
5. Objetivo general .....	6
5.1 Objetivos específicos .....	6
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS .....	7
7. FUNDAMENTACION TEORICA TECNICA .....	8
7.1 Origen de la papa ( <i>Solanum tuberosum</i> ).....	8
7.2 Papa en el Ecuador.....	8
7.3 Taxonomía de <i>Solanum Tuberosum</i> .....	8
7.4 Microbiología del suelo.....	9
7.5 Comunidades Bacterianas .....	9

7.6	Rizosfera .....	9
7.7	Características de la Rizosfera .....	10
7.8	Interfaz suelo raíz .....	10
7.9	¿Qué son las bacterias? .....	10
7.10	Beneficios de bacterias en la rizosfera .....	11
7.11	Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal .....	11
7.12	Hongos .....	11
7.13	Grupos funcionales .....	12
7.14	Solubilizadores de fósforo .....	12
7.15	Bacterias celulolíticas .....	12
7.16	Actinomicetes .....	13
7.17	Bacterias fijadoras de nitrógeno .....	13
7.18	Captadores de fósforo .....	14
7.19	Pseudomonas .....	14
8.	PREGUNTA CIENTÍFICA .....	14
9.	METODOLOGÍA .....	14
9.1	Instrumentos .....	15
	Actividad 1.- Delimitación del área del estudio .....	15
	Actividad 2.- Muestreo de la rizosfera de la papa en el área de estudio .....	15
9.2	Empaquetado y etiquetado de muestras .....	16
	Actividad 3.- Análisis genómico microbiológico .....	16
	Actividad 4. Agrupación taxonómica de consorcios microbianos .....	16
	Actividad 1.- Escoger la metodología específica para el cultivo y aislamiento .....	16
	Actividad 2.- Preparación de medios de cultivos específicos para cada grupo funcional a encontrar .....	17
	Actividad 3: Siembra e incubación en los medios de cultivos .....	19
	Actividad 4. Preparación de la muestra para recuento de UFC .....	19
	Actividad 5. Preparación de diluciones seriadas .....	19
	Actividad 6. Determinación de la concentración UFC .....	21
10.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	22
10.1	Identificación de consorcios bacterianos .....	22
10.2	Determinación de grupos funcionales .....	23
10.3	Concentración de colonias *gr <sup>-1</sup> por grupo funcional en muestras de suelo y raíz. ...	31
11.	CONCLUSIONES .....	35
12.	RECOMENDACIONES .....	36

13. BIBLIOGRAFÍA.....	37
14. ANEXOS .....	41

### ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cuadro de actividades por objetivo .....	7
Tabla 2. Taxonomía de papa ( <i>Solanum Tuberosum</i> ).....	9
Tabla 3. Coordenadas de la localidad .....	15
Tabla 4. Concentración de colonias*gr-1 por grupo funcional en muestras de suelo y raíz ...	31
Tabla 5. Concentración de ufc*gr <sup>-1</sup> por grupo funcional en muestras de suelo y raíz .....	33

### ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Papa.....	8
Ilustración 2. Mapa de la localidad muestreada.....	15
Ilustración 3. Proceso de disoluciones seriadas .....	20

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Árbol taxonómico por familias para las bacterias identificadas del piso altitudinal de 3100 msnm. ....	22
---	----



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Concentración de colonias*gr-1 de Microbiota Total.....	23
Gráfico 2. Concentración de colonias*gr-1 del grupo funcional Población Total de Hongos por siembra de disolución de suelo y fragmento de raíz.....	24
Gráfico 3. Concentración de conidios *gr-1 del grupo funcional Población Total de Hongos por siembra de disolución de suelo y fragmento de raíz. ....	24
Gráfico 4. Concentración de colonias*gr-1 del grupo funcional de Solubilizadoras de fósforo.....	25
Gráfico 5. Concentración de UFC*gr <sup>-1</sup> en el grupo funcional bacterias solubilizadoras de fosforo.....	26
Gráfico 6. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional Bacterias celulolíticas. ....	26
Gráfico 7. Concentración de ufc*gr <sup>-1</sup> del grupo funcional bacterias celulolíticas.....	27
Gráfico 8. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional Actinomicetos.....	28
Gráfico 9. Concentración de UFC* gr-1 del grupo funcional Actinomicetos.....	28
Gráfico 10. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional Bacterias Fijadoras de Nitrógeno .....	29
Gráfico 11. Concentración de ufc*gr <sup>-1</sup> en el grupo funcional de baterías fijadoras de nitrógeno.....	30
Gráfico 12. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional Pseudomonas.....	30
Gráfico 13. Concentración de ufc*gr <sup>-1</sup> del grupo funcional pseudomonas.....	31
Gráfico 14. Concentración de colonias* gr <sup>-1</sup> en siete grupos funcionales. ....	32
Gráfico 15. Concentración de ufc* gr-1 en siete grupos funcionales.....	33

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Metodología de Bernal 2015 (elaboración de medios de cultivos).....	41
Anexo 2. Recolección de muestras de suelo.....	48
Anexo 3. Preparación de los medios de cultivo específicos para cada grupo funcionales. ...	49
Anexo 4. Soluciones de muestras de suelo y tamización de raíces. ....	51
Anexo 5. Verificación de hongos y bacterias. ....	52
Anexo 6. Conteo de colonias y conidios en la cámara Neubauer.....	53
Anexo 7. Conteo de conidios, Grupo Funcional Microbiota Total (Suelo) .....	55
Anexo 8. Conteo de conidios, Grupo Funcional Microbiota Total (Raíz).....	56
Anexo 9. Conteo de conidios, Grupo Funcional Población Total de Hongos (Suelo).....	57
Anexo 10. Conteo de conidios, Grupo Funcional Población Total de Hongos (Raíz) .....	58
Anexo 11. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Solubilizadoras de Fósforo (Suelo) .....	59
Anexo 12. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Solubilizadoras de Fósforo (Raíz).....	60
Anexo 13. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Celulolíticas (Suelo) .....	61
Anexo 14. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Celulolíticas (Raíz).....	62
Anexo 15. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (Suelo).....	63
Anexo 16. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (Raíz) .....	64
Anexo 17. Conteo de conidios, Grupo Funcional Actinomicetos (Suelo).....	65
Anexo 18. Conteo de conidios, Grupo Funcional Actinomicetos (Raíz).....	66
Anexo 19. Conteo de conidios, Grupo Funcional Pseudomonas (Suelo) .....	67

Anexo 20. Conteo de conidios, Grupo Funcional Pseudomonas (Raíz).....	68
Anexo 21. Análisis de Suelo INIAP .....	69

## **1. INFORMACIÓN GENERAL**

### **Título del Proyecto:**

**“IDENTIFICACIÓN DE COMUNIDADES BACTERIANAS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), VAR. SÚPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3100 MSNM, CUTURIVI, COTOPAXI, 2022”**

### **Fecha de inicio:**

Octubre del 2021.

### **Fecha de finalización:**

Marzo del 2022.

### **Lugar de ejecución:**

Localidad de Cuturiví chico- Cantón Pujili – Provincia de Cotopaxi.

### **Facultad que auspicia:**

Facultad De Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

### **Carrera que auspicia:**

Ingeniería Agronómica.

### **Proyecto de investigación vinculado:**

Proyecto “IDENTIFICACIÓN DE COMUNIDADES BACTERIANAS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), VAR. SÚPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3100 MSNM, CUTURIVI, COTOPAXI, 2022”

### **Equipo de Trabajo:**

Responsable del Proyecto Ing. Ms.C. Wilman Paolo Chasi Vizúete

Tutor: Ing. Ms.C. Paolo Chasi

Investigador: Galo Sebastian Armas Ochoa

Lector 1: Ing. Mg. Jiménez Jácome Cristian

Lector 2: Ing. M.Sc Molina Alvarez Richad Alcides

Lector 3: Ing.Mg. Francisco Hernán Chancusig

### **Coordinador del Proyecto**

Nombre: Galo Sebastian Armas Ochoa

Teléfonos: 0987871692

Correo electrónico: galo.armas9058@utc.edu.ec

### **Área de Conocimiento:**

#### **1.1 Línea de investigación:**

##### **1.1.1. Línea:**

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local.

##### **1.1.2 Sub líneas de investigación:**

Caracterización de la biodiversidad

### **Línea de vinculación**

Gestión de recursos naturales, biodiversidad, biotecnología y genética para el desarrollo humano y social

## **2. DESCRPCION DEL PROYECTO**

El presente proyecto consistió en la identificación de comunidades bacterianas, y determinación de grupos funcionales presentes en la rizosfera de la papa en el piso altitudinal de 3100 msnm, en la provincia de Cotopaxi en la localidad de Cuturivi; para lo cual se procedió a recolectar muestras de suelo y de raíz de la variedad super chola, de la cuales se identificó las Comunidades bacterianas mediante análisis metagenómicos en el laboratorio del Centro de Investigación Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) y se determinó los grupos funcionales utilizando medios de cultivo como: Agar Nutritivo ( Microbiota Total) , Rosa de Bengala( Población total de Hongos), Agar Ramos Callao ( solubilizadores de fósforo), B de King (Pseudomonas), Agar Extracto de suelo (Bacterias Celulíticas), Watanabe (Fijadores de nitrógeno) y Agar Caseína(Actinomicetos). Donde se realizó el conteo de colonias y UFC\*gr-1 de suelo por cada uno de los grupos funcionales mencionados, y a la par se estableció el análisis Físico - Químico del suelo analizado en el Departamento de Suelos, Plantas y Aguas (INIAP).

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Según (Ferrera & Alarcón, 2001) menciona que en la actualidad el continuo deterioro del suelo ha tenido gran impacto negativo en la comunidad microbiana, tanto que causa pérdidas económicas en las áreas agrícolas, debido a los efectos adversos de los fertilizantes químicos sobre los suelos. Por lo tanto, es importante estudiar la relación entre microorganismos-planta, ya que permite establecer correlación entre el tipo de suelo, especies de plantas y grupos microbianos relacionados.

Las malas prácticas agrícolas, el inadecuado manejo al recurso suelo y los desaciertos en la planeación agrícola como el monocultivo, poca incorporación de materia orgánica, promoción de la erosión del suelo, inadecuados planes de fertilización, uso inadecuado de agroquímicos, entre otros, han hecho que el suelo como recurso y como medio que constituye gran cantidad de microorganismos benéficos haya perdido esos agentes naturales que de manera gratuita aportan y promueven procesos biogeoquímicos naturales importantes para preservar la vida del suelo y sus efectos.(Benjamin, 2019). De la misma forma esto provoca, un ambiente infértil dificulta la producción de nuevos cultivos, debido a que las plantas se vuelven más vulnerables a enfermedades y como consecuencia la producción agrícola disminuye tanto en cantidad y calidad.(Connor, 2019).

El mayor problema es la erosión del suelo, por el continuo desgaste físico, la pérdida de la base nutricional y húmica, tanto como en la actividad microbiana, donde se compromete con la fertilidad y productividad en deterioro de la seguridad y soberanía alimentaria. (Ferrera & Alarcón, 2001).

Además, el cambio climático es otra condición que podría agudizar enormemente esta problemática. En estudios elaborados por la Organización Meteorológica Mundial (OMM, 2006), se pronostica un fuerte aumento de temperatura, radiación solar y vientos, ocasionando incremento en la susceptibilidad de los suelos a sufrir algún tipo de degradación como la desertificación. Sin embargo, para el 2050 la degradación de los suelos y el cambio climático afectará el rendimiento global de los cultivos en un 10%, por lo que la producción agrícola podría verse reducida a la mitad. (Gómez, 2019).

#### 4. JUSTIFICACIÓN

El suelo es considerado un espacio heterogéneo definido por sus propiedades físicas, químicas y biológicas, que bajo condiciones naturales tiende a desarrollar un equilibrio dinámico entre sus diferentes atributos, lo que genera las condiciones adecuadas para una diversidad de organismos transformadores y descomponedores de sustratos. En general, se considera que la microbiota del suelo, conformada principalmente por bacterias y hongos, juega un papel importante en la fertilidad, reciclaje de nutrientes, evolución, estructura y conservación del mismo.(Reyes, 2007).

(Pozuelo, 1991), menciona que las raíces cuando crecen cambian y evolucionan creando muchos tipos de hábitats; por ello determinan la densidad y diversidad de la comunidad bacteriana rizosférica junto con las condiciones físico-químicas del medio edáfico.

La agricultura del mañana, desafiada por la creciente demanda mundial de alimentos, la escasez de tierras cultivables y los recursos junto con las múltiples presiones ambientales, debe gestionarse de manera inteligente a través de enfoques modernos sostenibles y ecoeficientes; ésta debe ser más productiva, sostenible y respetuosa con el medio ambiente.(Connor, 2019).

Por lo antes establecido es muy importante y de irrelevancia científica conocer e identificar las comunidades bacterianas y grupos funcionales en el agro sistema papa, para establecer un análisis de la dinámica de estas en diferentes pisos altitudinales y el efecto de los diversos sistemas de producción de papa.



## **5. Objetivo general**

Identificar comunidades bacterianas y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*).

### **5.1 Objetivos específicos**

- Analizar comunidades bacterianas asociados a la rizosfera de la papa.
- Determinar los grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa.

## 6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

**Tabla 1. Cuadro de actividades por objetivo**

Objetivos específicos	Actividad (tareas)	Resultado de la actividad	Medio de verificación
Identificar los consorcios bacterianos asociados a la rizosfera de la papa.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Delimitación del área de estudio.</li> <li>• Muestreo de la rizosfera de la papa en el área de estudio</li> <li>• Análisis genómico microbiológico</li> <li>• Agrupación de consorcios microbianos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agrupación taxonómica de consorcios microbianos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Árbol de taxonomía del NCBI para las bacterias identificadas.</li> </ul>
Determinar los diferentes grupos funcionales encontrados en la rizosfera de la papa.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Escoger la metodología específica de identidad en grupos funcionales.</li> <li>• Preparación de medios de cultivos específicos para cada grupo funcional a encontrar.</li> <li>• Preparación de la muestras UFC.</li> <li>• Preparación de disoluciones seriadas.</li> <li>• Determinación de la concentración UFC.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grupos funcionales identificados.</li> <li>• Conteo de UFC por grupo funcional UFC x gramo de suelo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Memoria fotográfica.</li> <li>• Tabla de grupos funcionales identificados</li> <li>• Tablas de conteo.</li> </ul>

**Fuente:** Galo Armas 2022

## 7. FUNDAMENTACION TEORICA TECNICA

### 7.1 Origen de la papa (*Solanum tuberosum*)

*Solanum tuberosum* dio origen en la Cordillera de los Andes que se domesticó en Sudamérica específicamente en Bolivia, entre los lagos Titicaca y Poopó hace unos 10,000 a 7,000 años, según revela la investigación realizada, las comunidades de cazadores y recolectores que habían poblado el sur del continente, existen controversias y opiniones muy diversas en cuanto al origen de la papa (*Solanum tuberosum*). (Rodríguez, 2010).

### 7.2 Papa en el Ecuador

La producción de papa (*Solanum tuberosum*) en el Ecuador está distribuida en tres zonas geográficas: norte, centro y sur. La diferencia agroecológica se determina por las relaciones entre clima, fisiografía y altura. En general, el cultivo de la papa en el país se desarrolla en terrenos irregulares, laderas hasta con más de 45% de pendiente y en un rango de altitud de 2.400 a 3.800 m.s.n.m. en los pisos interandinos y subandinos. Desarrollándose en condiciones de subparamo húmedo, aunque el cultivo se encuentra en los valles bajos, debido a la presión demográfica, actualmente los desplazamientos son hacia el páramo así consiguiendo un deterioro ambiental y el riesgo de pérdidas de cultivos por heladas. (Rodríguez, 2010).

### 7.3 Taxonomía de *Solanum Tuberosum*

#### Ilustración 1 Papa



**Tabla 2. Taxonomía de papa (*Solanum Tuberosum*)**

<b>Reino</b>	<b>Plantae</b>
<b>División</b>	Magoliopyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Subclase</b>	Asteridae
<b>Orden</b>	Solanales
<b>Familia</b>	Solanáceas
<b>Genero</b>	<i>Solanum</i>
<b>Especie</b>	<i>Teberosum</i>

#### 7.4 Microbiología del suelo

Los microorganismos desarrollan un rol fundamental en la fertilidad de los suelos con sus reacciones metabólicas que ayudan a la incorporación de materiales físicos químicos que asiste a obtener una mejor fertilidad del suelo.(Soil, 2012).

#### 7.5 Comunidades Bacterianas

Cuando se analiza una especie o grupo biológico, es importante conocer el contacto ambiental y biológico en el que se encuentra; con las especies que coexisten y en muchas ocasiones de las que depende (hospedero). El conjunto de especies que conviven en un lugar y tiempo constituye las comunidades. En un sistema microbiano el crecimiento celular forma poblaciones; las poblaciones metabólicamente relacionas se denominan gremios y el conjunto de estas agrupaciones interaccionan formando comunidades microbianas. Por lo tanto, las comunidades microbianas consisten en poblaciones de células de varias especies; que interactúan entre sí desarrollando múltiples actividades funcionales al interior de la comunidad y con su hospedero.(Zamudio, 2014).

#### 7.6 Rizosfera

Es la zona especializada entre las raíces y el suelo donde hay gran actividad microbiana y aumento de biomasa de la misma.

En la rizósfera se pueden encontrar gran cantidad de microorganismos, entre ellos hongos, bacterias, actinomicetos, protozoarios y algas; estos microorganismos se encuentran establecidos en asociación con las raíces, la cual puede ser de carácter benéfico o nocivo. En el primer caso, algunos ejemplos son las micorrizas, bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias promotoras del crecimiento vegetal y agentes de control biológico; en el caso de los nocivos, se destacan todos aquellos microorganismos fitopatógenos.(Sevilla, 2015).

### **7.7 Características de la Rizosfera**

Siendo la rizosfera una zona rica en microorganismos, radica en gran medida ya que se encuentra en el ambiente muy favorable para su desarrollo. Se a trabajado mucho en los últimos años para que sean capases de promover el crecimiento de la planta o en su defecto tenga un efecto de protección ante un organismo fitopatógenos. Relacionando la actividad microbiana entre un 2-5% de las bacterias presentan en la rizosfera ejercen un efecto benéfico sobre el crecimiento y desarrollo de la planta.(Probanza, 2012).

### **7.8 Interfaz suelo raíz**

La principal función de la raíz es anclar al vegetal al suelo absorbiendo agua y minerales, la llegada de los nutrientes a la planta, es el contacto que se produce al crecer la raíz por los poros del suelo durante su alargamiento. El flujo masal, la planta absorbe iones como diferencias de potencial hídrico entra la superficie de la raíz y del suelo.

Cuando la raíz se produce en menor concentración de iones que origina una diferencia de gradientes significativa con los del resto de la solución del suelo. En estas condiciones los iones se movilizan en direcciones a las raíces y penetran en la planta. (Arrigo, 2001).

### **7.9 ¿Qué son las bacterias?**

Son seres generalmente unicelulares que pertenecen al grupo de los protistas inferiores. Son células de tamaño variable cuyo límite inferior está en las 0,2m y el superior en las 50m; sus dimensiones medias oscilan entre 0,5 y 1m. Las bacterias tienen una estructura menos compleja que la de las células de los organismos superiores: son células procariotas (su núcleo está formado por un único cromosoma y carecen de membrana nuclear).(B. Lopez, 2019).

### **7.10 Beneficios de bacterias en la rizosfera**

Las rizosferas área del suelo que se encuentra unida a la raíz y que se extiende a pocos milímetros de la superficie del sistema radicular. La cantidad de bacterias que se van a encontrar depende de muchos factores como son: la temporada, el tipo de suelo, la vegetación, el contenido de humedad, el tipo de labranza y fertilización. Se caracteriza la zona por la interacción única y dinámica de los procesos biogeoquímicos que ocurren entre las raíces de las plantas y microorganismos del suelo, los cuales son altamente influenciados por los exudados radiculares, albergando una gran cantidad de microorganismos que estimulan el crecimiento vegetal y reducen la incidencia de enfermedades.(Velasco & Jiménez, 2020).

### **7.11 Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal**

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), son bacterias vivas aisladas principalmente de la rizosfera que promueve el crecimiento de las plantas mediante una amplia variedad de mecanismos. Varios estudios ponen en relieve la inoculación de plantas con PGPR pueden tener efectos considerables en la planta a nivel fisiológico como molecular, sugiriendo la posibilidad de la biota del suelo pueda estimular a las plantas a ser más eficientes en la recuperación de nutrientes.

Las rizobacterias incrementa la disponibilidad de nutrientes en la rizosfera al influir en el metabolismo de las plantas mejorando su nutrición mediante diferentes mecanismos como:

- Fijación de Nitrógeno síntesis de fitohormonas (auxinas, giberelinas, citocininas).
- Vitaminas y enzimas.
- Sutilizadores de fosforo inorgánico y mineralización de nitritos
- Oxidación de sulfuros
- Incremento en la permeabilidad de la raíz
- Producción de nitritos, acumulación de nitratos.(Reyes, 2019)

### **7.12 Hongos**

Los hongos constituyen uno de los mayores grupos de seres vivos que conservan un núcleo diferenciado y organelos citoplasmáticos rodeado por membranas, muchos hongos poseen quitina

en su pared celular como los polisacárido en cambio otros tienen celulosa en lugar de quitina sin embargo poseen estructuras vegetativas filamentosas llamadas hifas.(Garcés, 2015).

### **7.13 Grupos funcionales**

Los grupos funcionales se definen como patrones de átomos y sus características pueden ser afectadas por su estructura, solubilidad y reactividad al comportamiento químico de las moléculas.(Conrado, 2003).

### **7.14 Solubilizadores de fósforo**

Para que las plantas puedan absorber todo el fósforo del suelo los microorganismos pueden ayudar a solubilizar y mineralizar de forma orgánica e inorgánica liberando ácidos orgánicos y de enzimas hidrolíticas que ayuda a incrementar su movilización para el crecimiento vegetativo algunas especies de las rizosferas son:

*Bacillus subtilis*

*Pseudomonas putida*

*Aspergillus niger*,

*Penicillium bilaji*; otras especies de los géneros, *Thiobacillus* *Micrococcus* y *Mycobacterium*.(Beltrán, 2015).

### **7.15 Bacterias celulolíticas**

La celulosa siendo el polímero más abundante del planeta teniendo la estructura molecular de un homopolisacárido formado por moléculas lineales de forma paralela, las microfibrillas de celulosa se forman al ser varias unidades inter e intermoleculares entre si forman zonas más cristalinas, mientras en otras zonas más laxas o amorfas.(Bohorquez, 2007).

Los microorganismos celulíticos (hongos, filamentosos, bacterias, actinomicetos) los hongos son la principal causa de degradación de la celulosa en suelos húmedos, caso contrario con las bacterias que realizan una mejor labor en suelo semiáridos. (Salinas, 2019)

Los microorganismos degradadores de celulosa incluyen bacterias y hongos, aerobios y anaerobios, termófilos y mesófilos que ocupan diversos hábitats.

Entre las bacterias aerobias son:

- *Bacillus sp.*
- *Vibrio sp.*
- *Cytophaga sp.*
- *Pseudomonas sp.*
- *Thermobifida sp.*
- *Cellulomonas sp.*(Loaiza, 2017).

### **7.16 Actinomicetes**

Los actinomicetos son bacterias filamentosas Gram positivas, que están distribuidas en el medio ambiente, son microorganismos con propiedades quitinolíticas, constituido con guanina y citosina en su DNA diferenciándose de otras bacterias Gram positivas. (Gonzales, 2010).

Se los puede encontrar en superficies rocosas y en suelos rizosfericos, ricos en humos, sedimentos marinos que son importantes para estimular su crecimiento de estos microorganismos. La mayor parte son especies heterótrofas, aerobios, mesofilas ya que son pocos tolerantes a la acidez y a su poca capacidad para retener agua.(Gonzales, 2010).

### **7.17 Bacterias fijadoras de nitrógeno**

La fuente principal de nitrógeno en el ambiente es la atmosfera siendo un 78% de este elemento en forma de gas, sin embargo, el nitrógeno atmosférico solo es fijado por ciertas bacterias que transforman este gas en compuestos nitrogenados que utilizan las plantas. En los suelos la fuente esencial de nitrógeno es la materia orgánica y sus formas disponibles son: nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) aunque las plantas absorben rápidamente ambas formas de nitrógeno, por lo general el amonio es rápidamente transformado en nitrato. (Castellanos, 2007).

Después de que el nitrógeno se incorpora en la materia orgánica, frecuentemente se vuelve a convertir en nitrógeno inorgánico a través del proceso denominado mineralización. La



mineralización es el proceso por el cual el nitrógeno orgánico de los aminoácidos o proteínas es transformado por los microorganismos en amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y después en nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). (García, 2011).

La materia orgánica ya incorporada se convierte en nitrógeno inorgánico ya que se lo encuentra por lo general en los primeros años (inmóvil), esto es causado por los microorganismos que absorben rápidamente las distintas formas de nitrógeno para poder descomponer los residuos de la materia orgánica, hasta el momento que las plantas pueda absorber todo el nitrógeno cuando la materia orgánica este descompuesto completamente. (García, 2011).

### **7.18 Captadores de fósforo**

Las micorrizas actúan como captadoras de fosforo, se unen a las raíces proporcionándoles los alimentos necesarios ricos en azúcares, la presencia de las micorrizas favorecen el sistema radical asistiendo a la planta a una mejor absorción de agua, nutrientes y protegiéndose de patógenos. (Cruz, 2018).

### **7.19 Pseudomonas**

Las pseudomonas son bacterias Gram negativas en formas de bastones, con una amplia flexibilidad metabólica y respiración aeróbica, ya que poseen uno o varios flagelos polares que les confiere movilidad. Se han identificado mecanismos que generan un aumento de nutrientes del suelo hacia las plantas, producción de fitohormonas y producción metabolitos teniendo un efecto positivo sobre el crecimiento de las mismas. (Braga, 2015).

## **8. PREGUNTA CIENIFICA**

¿Mediante la secuenciación genómica y la utilización de medios específicos para el cultivo de bacterias se puede analizar y determinar comunidades bacterianas y grupos funcionales asociados a la rizosfera del cultivo de la papa?

## **9. METODOLOGIA**

La investigación realizada tiene una metodología experimental con un método cualitativo y cuantitativo.

## 9.1 Instrumentos

Observación directa

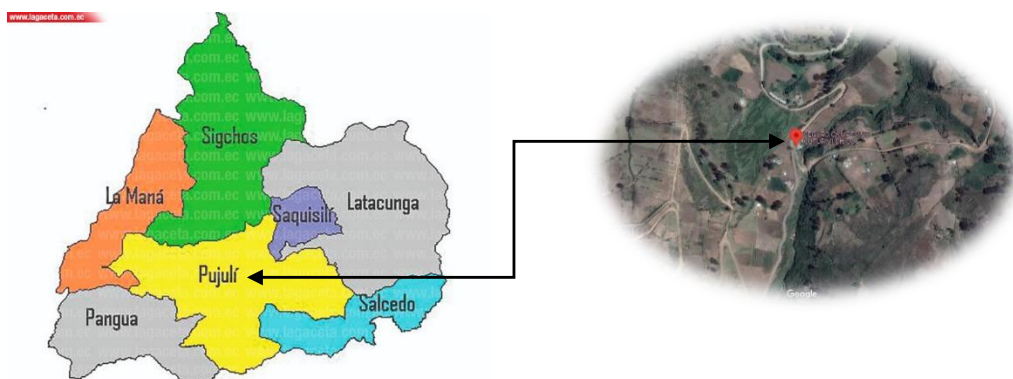
Revisión bibliográfica

**Objetivo 1.- Identificar** los consorcios bacterianos asociados a la rizosfera de la papa.

**Actividad 1.- Delimitación del área del estudio.**

Para la delimitación del área de estudio, se busca un predio que cuente con las condiciones favorables al cultivo de papa, utilizando herramientas de ubicación geográfica (**Google earth y Andy GPS**) se procede al levantamiento geográfico con coordenadas y altitud exacta del piso altitudinal.

**Ilustración 2. Mapa de la localidad muestreada**



Fuente:(Google Maps 2022)

**Tabla 3. Coordenadas de la localidad**

Latitud	Longitud	Altitud
0°59'04''S	78°44'05''W	3100 msnm

**Actividad 2.- Muestreo de la rizosfera de la papa en el área de estudio.**

Se utilizó la metodología del manual establecido por (Baez et al., 2019) mencionando que las muestras edáficas deben ser tomadas de áreas que se localice libres de fertilizaciones inorgánicas y labores culturales, la profundidad para adquirir la muestra es de 20 a 30 cm.

Se obtendrá tres muestras de suelo mediante el método de zig- zag de manera aleatoria con sus puntos GPS correspondientes de cada muestra, aproximadamente se obtendrá un 1kg de toda el área de estudio. Se procede a retirar materiales extraños que no son parte del microbiota del suelo, para facilitar la preparación del medio de cultivo.

## **9.2 Empaquetado y etiquetado de muestras.**

Las muestras serán colocadas en funda ziploc con su respectiva identificación del lugar o parte del suelo con sigla A1, A2, A3 de donde fueron tomadas cada una, previo a su análisis.

### **Actividad 3.- Análisis genómico microbiológico**

Se utilizar la técnica de la PCR (**Reacción de la cadena de la polimerasa**) y para el análisis de consorcios se utilizará un descriptor de cebadores (**16SRNA**).

### **Actividad 4. Agrupación taxonómica de consorcios microbianos**

Identificación bacteriana a través de la secuenciación del gen 16s.

Es una amplificación de los genes 16s de cada muestra y preparación de librerías de ADN para secuenciar en el MinION Mk1B utilizando el kit de código de barras 16s 1-24 (SQK-16S024). Con una secuenciación de librerías 16s en el MinION de Oxford Nanopore y posterior basecalling en MinKNOW y un análisis de las lecturas resultantes en el flujo bioinformático online 16S en EPI2ME.

**Objetivo 2.-** Determinar los diferentes grupos funcionales encontrados en la rizosfera de la papa.

### **Actividad 1.- Escoger la metodología específica para el cultivo y aislamiento**

Se realizara una revisión bibliográfica de las diferentes metodologías para el aislamiento microbiológico y se escogió la metodología de (Bernal, 2015).Donde indica diferentes medios de cultivos específicos para cada grupo funcional.

Para el recuento de las unidades formadoras de colonia por gramo de suelo ( $\text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ ) de suelo utilizamos el manual de análisis de calidad para formulaciones con base en hongos biocontroladores (determinación de la viabilidad/ concentración de UFC cuantificación por recuento en cajas Petri) (Baez et al., 2019).

## **Actividad 2.- Preparación de medios de cultivos específicos para cada grupo funcional a encontrar**

Dispensar a los medios:

### ➤ **Medio agar nutritivo (Microbiota Total).**

Para la elaboración del medio agar nutritivo utilizamos 1000 ml de agua destilada y se pese 20g de agar nutritivo. Se lo llevo a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizándolo en 7.0 con el uso de ácido clorhídrico.(Anexo 1).

### ➤ **Rosa de bengala: (Población Total de Hongos)**

Para la elaboración del medio de cultivo para hongos se utilizó frascos con tapa en la que colocan 1000 ml de agua destilada en la que se va colocando los reactivos en las cantidades establecidas (Anexo 1), excepto la estreptomycin, colocado todos los reactivos lo llevamos a un agitador, hasta obtener una mezcla homogénea que a la vez se va midiendo el pH, estabilizándolo en 5,5 para luego colocarlo en el autoclave.

Luego, la estreptomycin se diluye en 10 ml de agua y se la añade antes de dispensar el medio en las respectivas cajas, con la ayuda de una jeringuilla y un filtro. La estreptomycin inhibe el desarrollo y crecimiento de bacterias, permitiendo que solo los hongos aparezcan.

### ➤ **Ramos Callao: (Solubilizadores de Fósforo).**

En un recipiente con tapa se colocó 1000 ml de agua destilada en la que se va colocando el extracto de levadura, la glucosa y el fosfato tricálcico, en las cantidades indicadas (Anexo 1). Se lo lleva a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizándolo en 7.0, se añade el agar.

### ➤ **Agar Extracto de Suelo: (Bacterias Celulolíticas).**

En un recipiente con tapa se colocó 850 ml de agua destilada en la que se va colocando el fosfato dibásico de potasio y el nitrato de amonio en las cantidades indicadas. Los 850 ml van en función de los restantes volúmenes que se van a utilizar (carboximetilcelulosa y extracto de suelo).

La carboximetilcelulosa se diluye en 50 ml de agua destilada, con la ayuda de un agitador y se lo coloca al calor y una vez que ha sido diluida se lo pone al medio final.

El extracto de suelo se lo obtiene mediante la recolección de tierra de jardín rica en humus. Se limpia la hojarasca o impurezas de la superficie, se toma aproximadamente 1 kilogramo de suelo el mismo que se tamiza a un malla menor a 2 mm, hasta obtener una muestra de 500 gramos. Luego en 1000 ml de agua corriente se coloca el suelo y se agita bien. Se esteriliza en erlenmeyer amplio en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión. Se lo retira y se deja decantar lo suficiente para luego filtrarlo a través de papel Whatman (papel filtro) en una bomba de vacío por lo menos dos veces. El filtrado es llevado a la centrífuga, a 3600 rpm, por 20 minutos. De la solución final se toma 100 ml y se añade a la solución inicial del medio de cultivo, se lo lleva a la agitadora y se regula el pH a 6.5, al final se añade el agar (Anexo 1).

➤ **Watanabe: (Bacterias Fijadores de Nitrógeno)**

Para preparar 1000 ml de medio watanabe se mide 500 ml de agua destilada en una botella con tapa rosca, se colocó la glucosa, el manitol y el ácido málico. El almidón se diluye al calor en 50 ml de agua destilada, una vez bien diluido se lo añade al medio, tomando en cuenta todos los volúmenes agregados. Se añade las soluciones II y III (tomando los reactivos en las cantidades indicadas) se toman los volúmenes especificados y se añade al medio de cultivo (Anexo 1)

El bromotimol azul al 1% en etanol se prepara pesando 1 g de este reactivo y diluyendo en 100 ml de etanol; de lo cual se toma 2 ml en 1000 ml de medio, con la ayuda de una pipeta.

Se suman los volúmenes indicados y se descuentan para saber la cantidad faltante para completar 1000 ml. Se nivela el pH entre 6.8 y 7.2 y se coloca el agar.

➤ **Agar Caseína : (Actinomicetos)**

En un recipiente con tapa se colocó 950 ml de agua destilada, se coloca la caseína, el fosfato monopotásico. El almidón debe ser diluido a parte al calor en 50 ml de agua destilada hasta que esté transparente, sin llegar a ebullición, entonces se lo pasa a la formulación final. Se lleva al agitadora, se estabiliza el pH en 7.0, y se coloca el agar, para luego esterilizar en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión (Anexo 1).

➤ **B de King (Pseudomonas)**

En un recipiente con tapa se colocó 1000 ml de agua destilada donde, se agrega peptona, agar purificado, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (anhidro), MgSO<sub>4</sub> y 7 H<sub>2</sub>O (anhidro) hasta tener una solución homogénea y dirigir al autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.

**Actividad 3: Siembra e incubación en los medios de cultivos.**

- Seleccionar las diluciones más concentradas
- Rotular las cajas Petri con medio de cultivo Agar Agua
- Sembrar 100 ul de las diluciones seleccionadas
- Sellar la caja Petri sembrada con el papel Parafilm o papel plástico de cocina
- Incubar entre 22°C y 25 C° por el tiempo estandarizado
- Adicionar tres gotas de azul de lactofenol sobre la superficie del agar.
- Contar un cuadrado de agar coloreado de aproximadamente 1 cm
- Contar 300 conidios en total por muestra (germinados y no germinados)
- Registro de los datos obtenidos según la dilución sembrada y la repetición.
- Calcular el porcentaje de germinación. (Baez et al., 2019) .

**Actividad 4. Preparación de la muestra para recuento de UFC.**

- Tomar tres submuestras 1g para muestras solidas o 1ml con micropipeta para muestras liquidas.
- Colocar las submuestras en tubos de ensayos de 15ml
- Adicionar a cada tubo 9ml de solución estéril de tritón X- 100 al 0.1%
- Agitar en vortex hasta que la muestra se disperse completamente.
- La suspensión obtenida corresponde a la suspensión madre o dilución  $10^{-1}$  (Baez et al., 2019).

**Actividad 5. Preparación de disoluciones seriadas**

**Método de siembra por disoluciones seriadas**

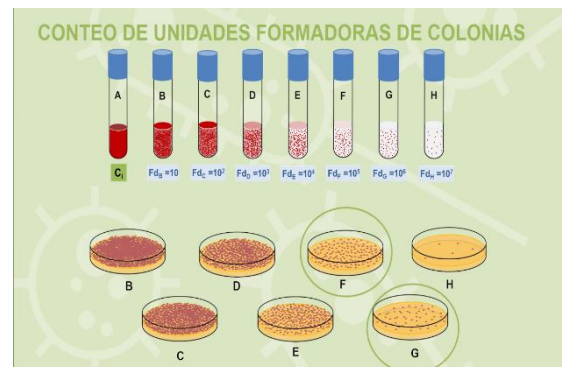
Se lo realiza cuando una muestra de microorganismos supera los 300 UFC facilitando el conteo y obtener resultados confiables contenga disoluciones.

## Proceso

Siembra en cajas Petri y se procede hacer con conteo del número de colonias que debe ser multiplicado por el factor de diluciones para obtener las UFC por milímetro de nuestra original.

- Tomar 100ul (1ml) de la suspensión madre y colocar en otro tubo con 9ml de solución estéril o agua destilada.
- Agitar en vortex vigorosamente el tubo hasta que la muestra se disperse completamente (dilución  $10^{-2}$ ).
- A partir de dilución  $10^{-2}$  repetir los pasos anteriores tantas veces como sea necesario para alcanzar el número de diluciones deseadas. Marcar los tubos con el nombre de la dilución correspondiente (ej.  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , etc.) el número de diluciones dependerá de la concentración del producto generalmente se realiza hasta la dilución  $10^{-7}$ . (Baez et al., 2019) .

### Ilustración 3. Proceso de diluciones seriadas



Fuente: (UpoTV - Conteo de Bacterias Viables, n.d.)

### ➤ Método de siembra por fragmento de raíz

Es una siembra directa consiste en introducir muestra vegetal (inóculo) a una medida de las diferentes zonas de la raíz y posterior colocar en una solución nutritiva, con el fin de iniciar un cultivo microbiano, para su desarrollo y multiplicación. Una vez sembrado, el medio de cultivo se incubaba a una temperatura adecuada para el crecimiento. (UpoTV - Conteo de Bacterias Viables, n.d.).

### **Actividad 6. Determinación de la concentración UFC**

Basados en la concentración del producto reportada por el fabricante, seleccionar las diluciones a sembrar para realizar el conteo destacar que en algunos casos se desconoce la concentración y entonces se debe seleccionar un rango m amplia de diluciones para sembrar.

- Rotular las cajas Petri con medio de cultivo PDA con el nombre de la muestra,
- Nombre de la muestra
- Fecha
- Número de dilución siguiente a la del tubo que es utilizado para sembrar.
- Tener 10 repeticiones (cajas inoculadas) por grupo funcional por dilución y por siembra de raíz, es decir 5 cajas Petri por submuestra resultando en un total de 70 cajas muestras. (Baez et al., 2019).

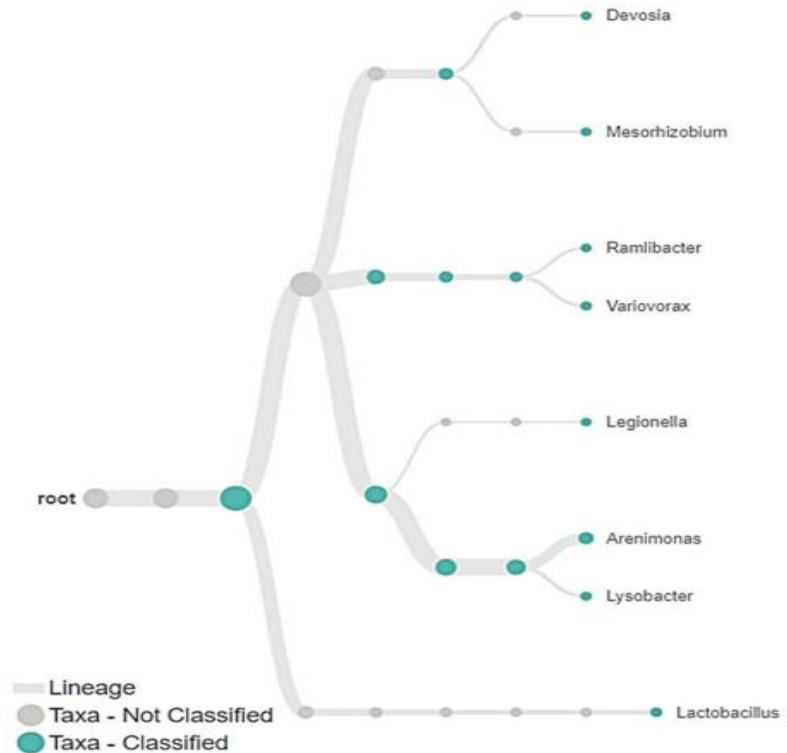


## 10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 10.1 Identificación de consorcios bacterianos

**Figura 1. Árbol taxonómico por familias para las bacterias identificadas del piso altitudinal de 3100 msnm.**

Géneros	Lecturas
Arenimonas	2,530
Lactobacillus	860
Variovorax	628
Lysobacter	583
Ramlibacter	404
Mesorhizobium	357
Devosia	348
Legionella	229
Sphingomonas	173
Mucilaginibacter	137
Stenotrophomonas	134
Brevundimonas	121



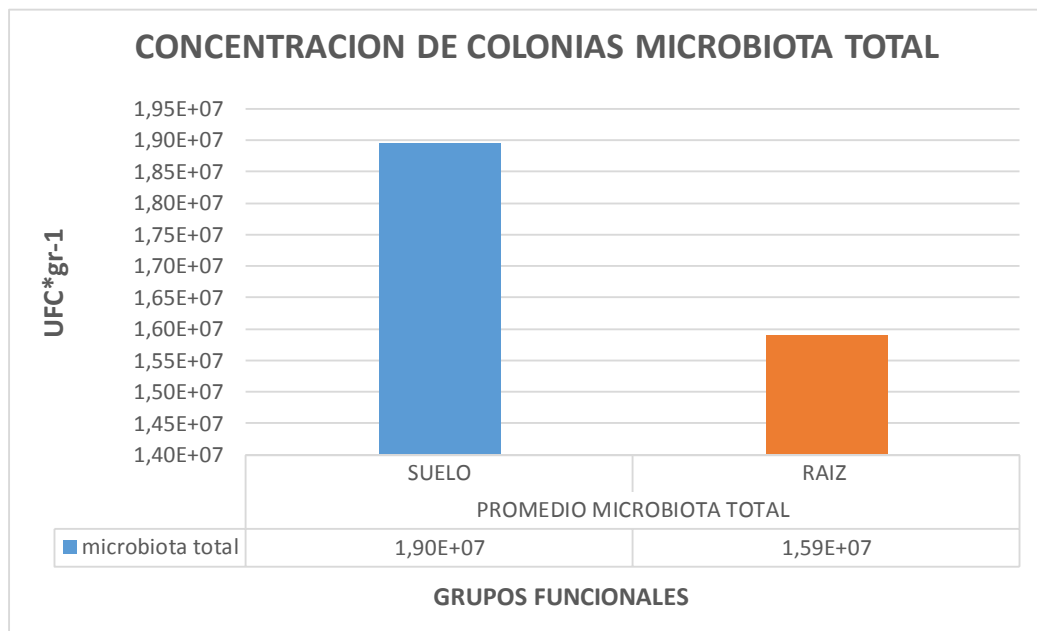
**Fuente:** Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), 2022.

Como se puede apreciar en la figura 1 el género con mayor prevalencia son las Arenimonas con 2,530 lecturas, este género es considerado bacterias fijadoras de nitrógeno, concordando con lo estipulado por (Souza, 2021), que textualmente que las arenimonas producen el aumento en la abundancia de funciones relacionadas con la obtención de energía y transformación de nitrógeno. El segundo género con más lecturas es el de Lactobacillus con 860 dentro de este género está el grupo funcional bacterias solubilizadoras de fósforo, esto corrobora con lo expuesto (Alvarez & Tuca, 2018) donde indica que los Lactobacillus tienen la capacidad de solubilizar el fósforo orgánico en el suelo beneficiando la absorción de nutrientes por las plantas.

## 10.2 Determinación de grupos funcionales

Los análisis a interpretar son acorde a datos obtenidos del conteo de colonias en el contador de colonias en UFC\*gr suelo mediante el uso de la cámara Neubauer. Realizando la interpretación de los gráficos de barras de las dos muestras suelo y raíz caracterizando los diferentes grupos funcionales observados.

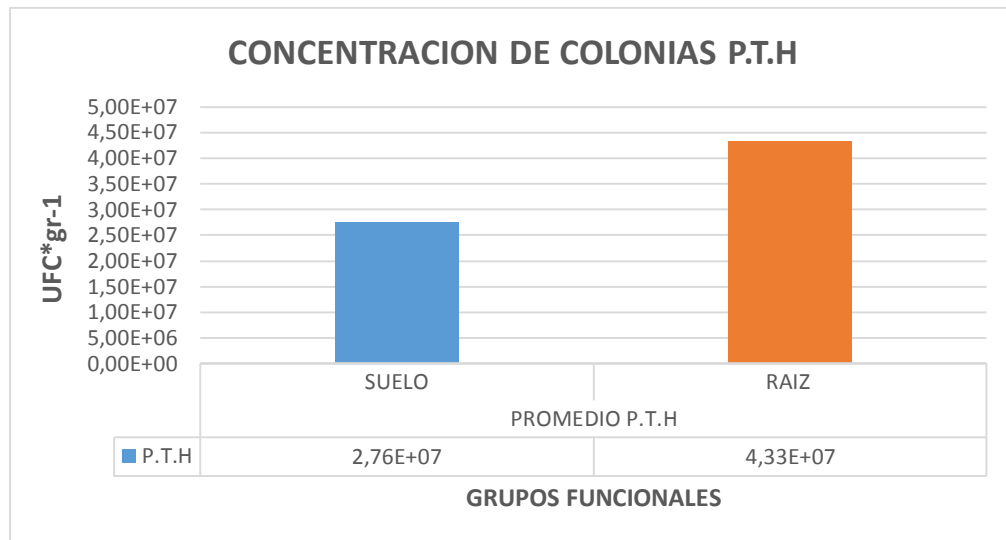
**Gráfico 1. Concentración de colonias\*gr-1 de Microbiota Total.**



**Elaborado por:** (Galo Armas, 2022)

Como se observa (grafico 1) existe presencia de población total de bacterias con  $1,90 \cdot 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en la muestra de suelo y en muestra de raíz con  $1,59 \cdot 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup>, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

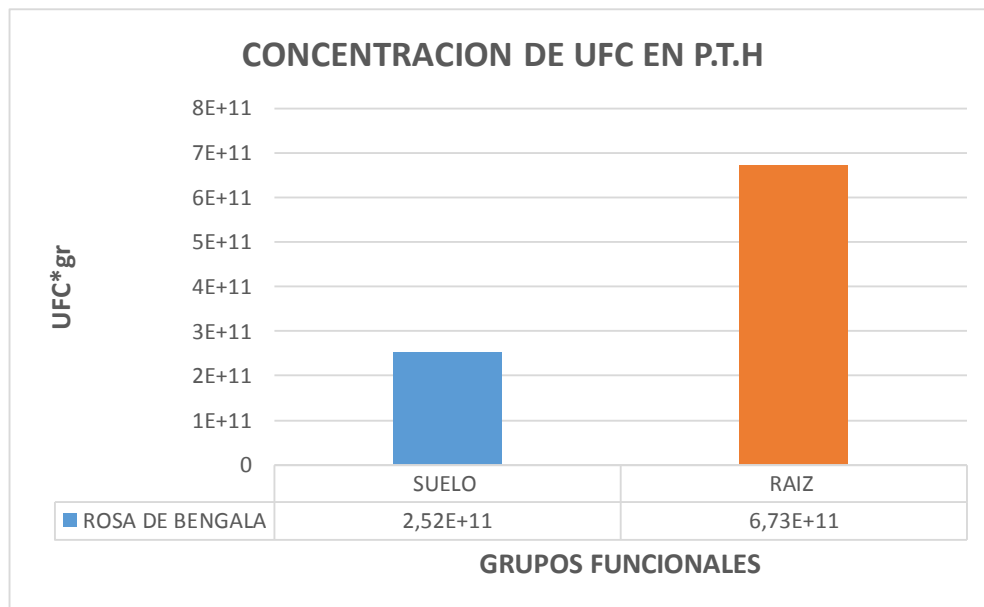
**Gráfico 2. Concentración de colonias\*gr-1 del grupo funcional Población Total de Hongos por siembra de disolución de suelo y fragmento de raíz.**



**Elaborado por:** (Galo Armas, 2022)

Como se observa (grafico 2) existe presencia de población total de hongos con  $2,76 \cdot 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en la muestra de suelo y  $4,33 \cdot 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

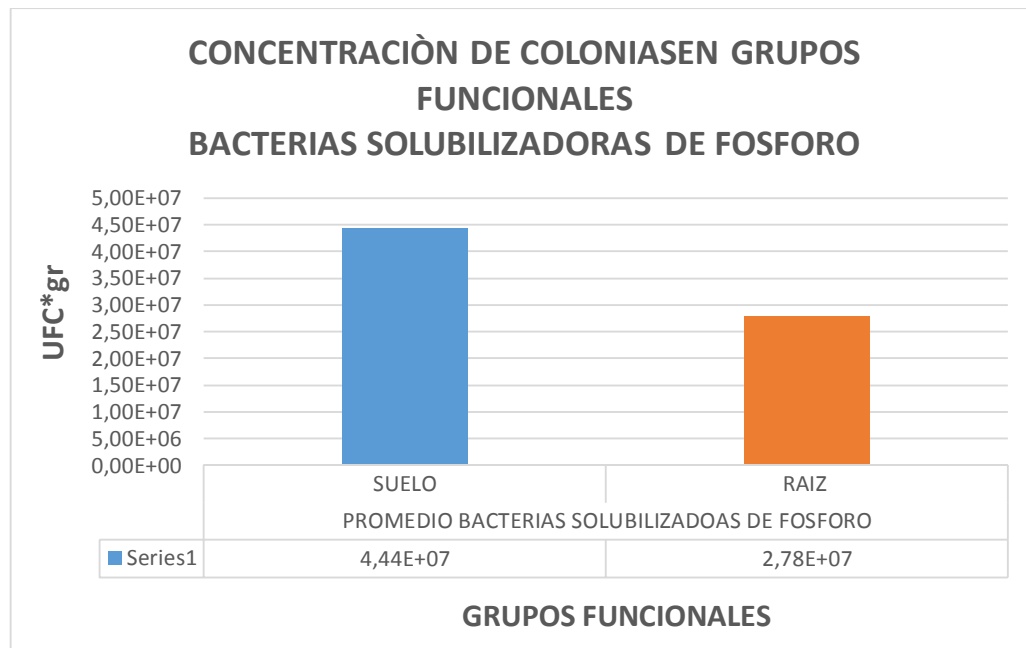
**Gráfico 3. Concentración de conidios \*gr-1 del grupo funcional Población Total de Hongos por siembra de disolución de suelo y fragmento de raíz.**



**Elaborado por:** (Galo Armas, 2022)

Como se observa (grafico 3) existe presencia de población total de hongos con  $2,52 \cdot 10^{11}$  ufc\*gr<sup>-1</sup> en la muestra de suelo y  $6,73^{11}$  ufc\*gr<sup>-1</sup> en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

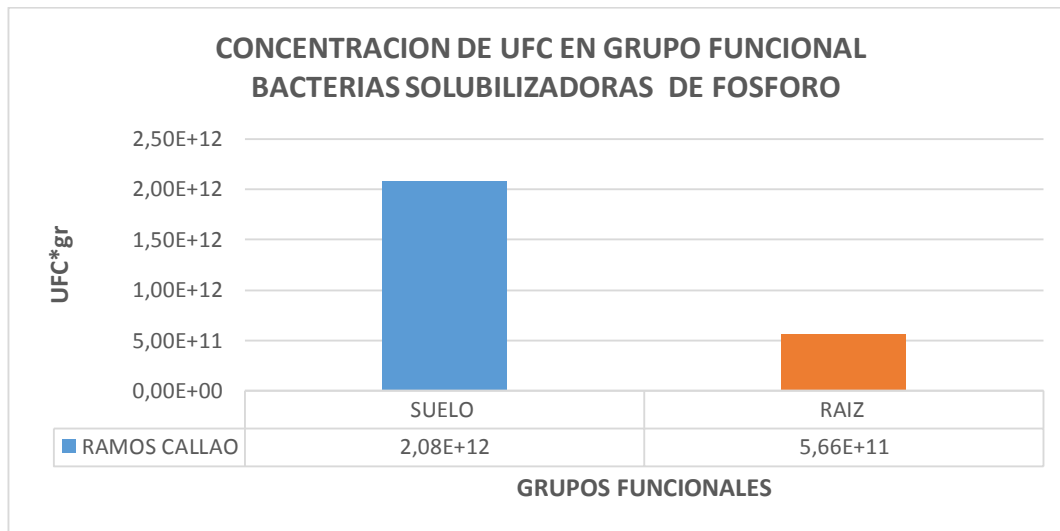
**Gráfico 4.** Concentración de colonias\*gr-1 del grupo funcional de Solubilizadoras de fósforo.



**Elaborado por:** (Galo Armas, 2022)

Como se observa (grafico 4) existe presencia de bacterias solubilizadoras de fosforo con  $2,78 \cdot 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en la muestra de suelo y  $4,44 \cdot 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

**Gráfico 5. Concentración de UFC\*gr<sup>-1</sup> en el grupo funcional bacterias solubilizadoras de fosforo.**

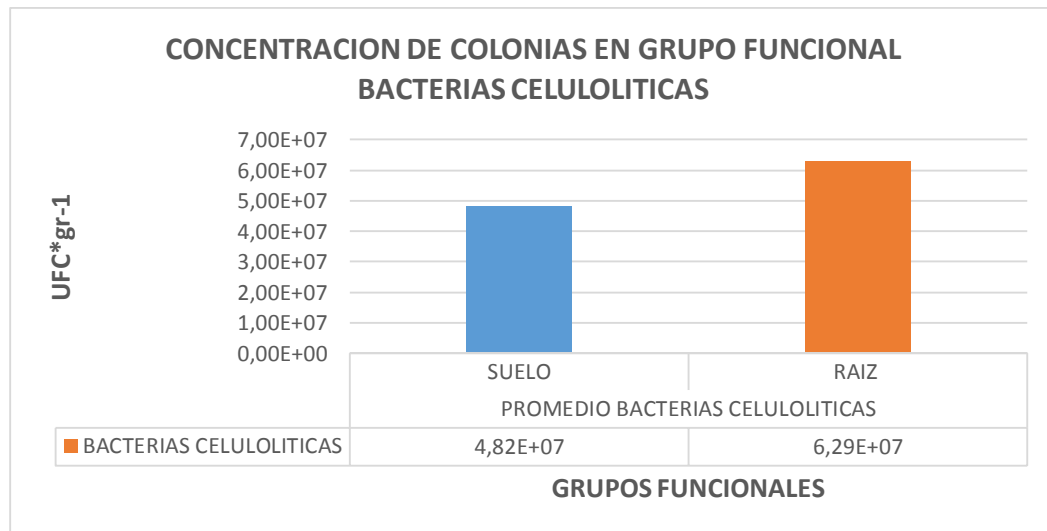


**Elaborado**

**por: (Galo Armas, 2022)**

Como se observa (grafico 5) existe presencia de bacterias solubilizadoras de fosforo con  $2,08 \cdot 10^{12}$  ufc\*gr<sup>-1</sup> en la muestra de suelo y  $5,66 \cdot 10^{11}$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

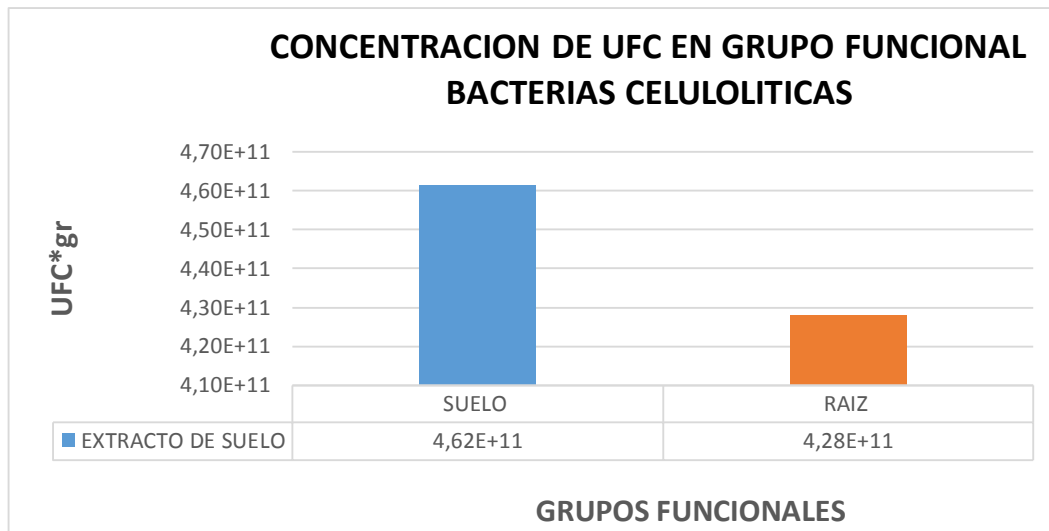
**Gráfico 6. Concentración de colonias\* gr-1 del grupo funcional Bacterias celulolíticas.**



**Elaborado por: (Galo Armas, 2022)**

Como se observa (grafico 6) existe presencia de bacterias celulolíticas con  $4,82 \cdot 10^7$  colonias\* $gr^{-1}$  en la muestra de suelo y  $6,29 \cdot 10^6$  colonias\* $gr^{-1}$  en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

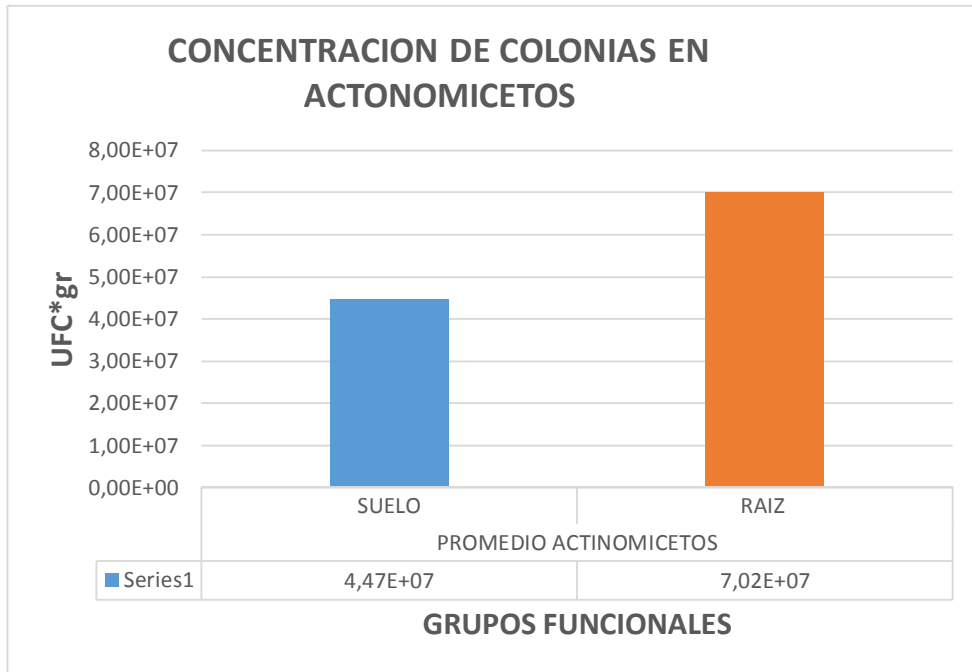
**Gráfico 7. Concentración de ufc\* $gr^{-1}$  del grupo funcional bacterias celulolíticas.**



**Elaborado por:** (Galo Armas, 2022)

Como se observa (grafico 7) existe presencia de bacterias celulolíticas con  $4,62 \cdot 10^{11}$  ufc\* $gr^{-1}$  en la muestra de suelo y  $4,28 \cdot 10^{12}$  ufc\* $gr^{-1}$  en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

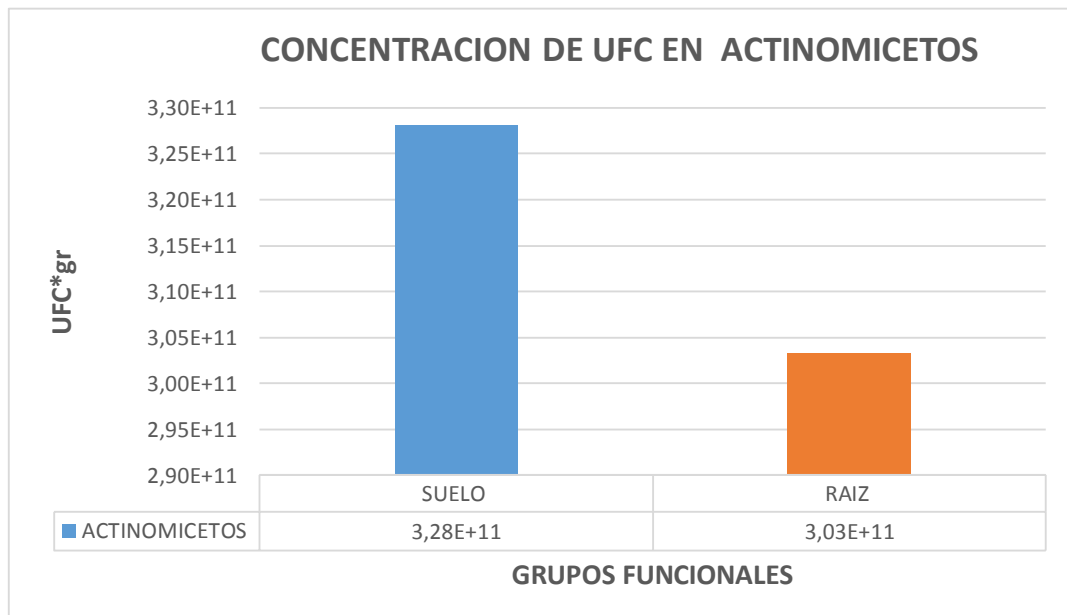
**Gráfico 8. Concentración de colonias\* gr-1 del grupo funcional Actinomicetos.**



**Elaborado por:** (Galo Armas, 2022)

Como se observa (grafico 8) existe presencia de actinomicetos con  $4,47 \cdot 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en la muestra de suelo y  $7,02 \cdot 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

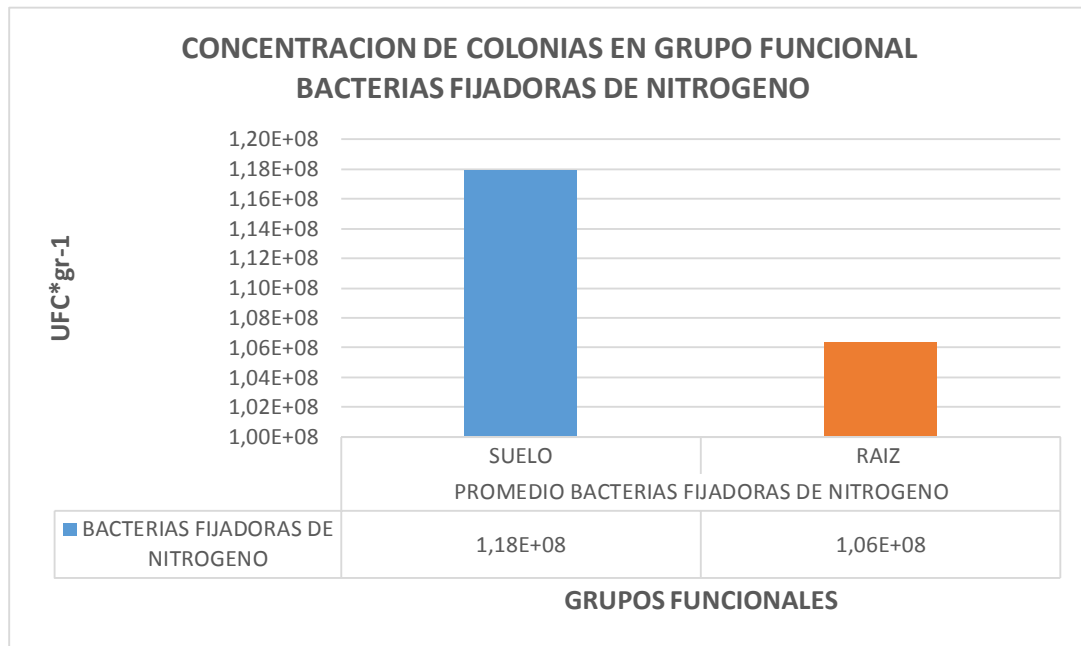
**Gráfico 9. Concentración de UFC\* gr-1 del grupo funcional Actinomicetos.**



**Elaborado por:** (Galo Armas, 2022)

Como se observa (grafico 9) existe presencia de actinomicetos con  $3,28 \cdot 10^{11}$  ufc\*gr<sup>-1</sup> en la muestra de suelo y  $3,03 \cdot 10^{11}$  ufc\*gr<sup>-1</sup> en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

**Gráfico 10. Concentración de colonias\* gr-1 del grupo funcional Bacterias Fijadoras de Nitrógeno**



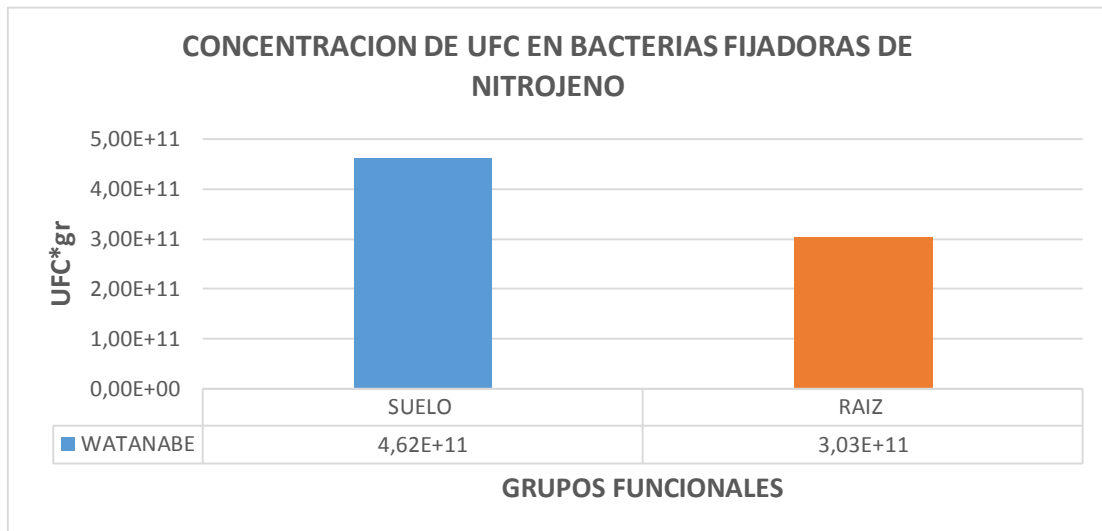
**Elaborado por:** (Galo Armas, 2022)

Como se observa (grafico 10) existe presencia de bacterias fijadoras de Nitrógeno con  $1,18 \cdot 10^8$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en la muestra de suelo y  $1,06 \cdot 10^8$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.



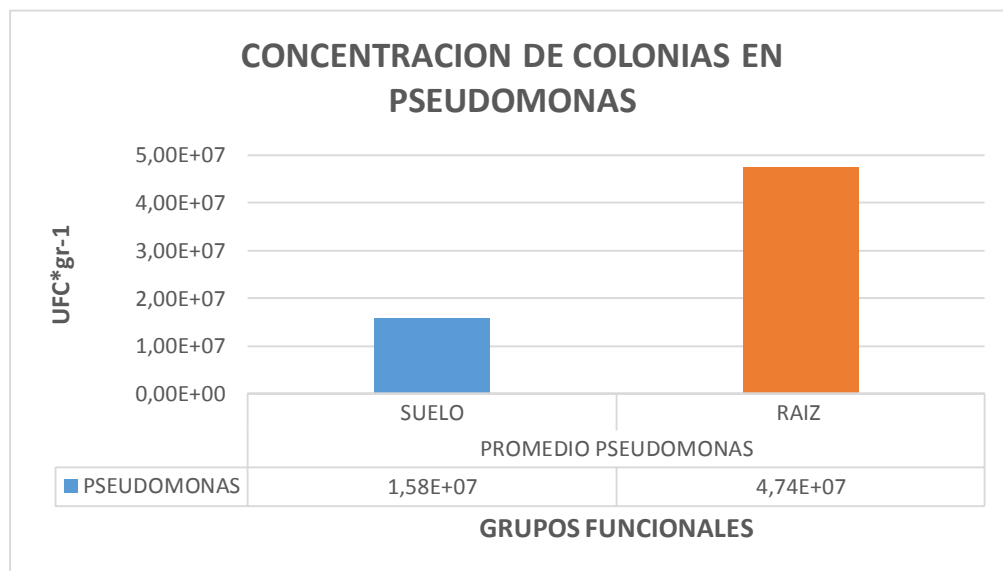
**Gráfico 11.** Concentración de  $\text{ufc} \cdot \text{gr}^{-1}$  en el grupo funcional de bacterias fijadoras de nitrógeno.

Elaborado por: (Galo Armas, 2022)



Como se observa (grafico 11) existe presencia de bacterias fijadoras de Nitrógeno con  $4,62 \cdot 10^{11}$   $\text{ufc} \cdot \text{gr}^{-1}$  en la muestra de suelo y  $3,03 \cdot 10^{11}$   $\text{ufc} \cdot \text{gr}^{-1}$  en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

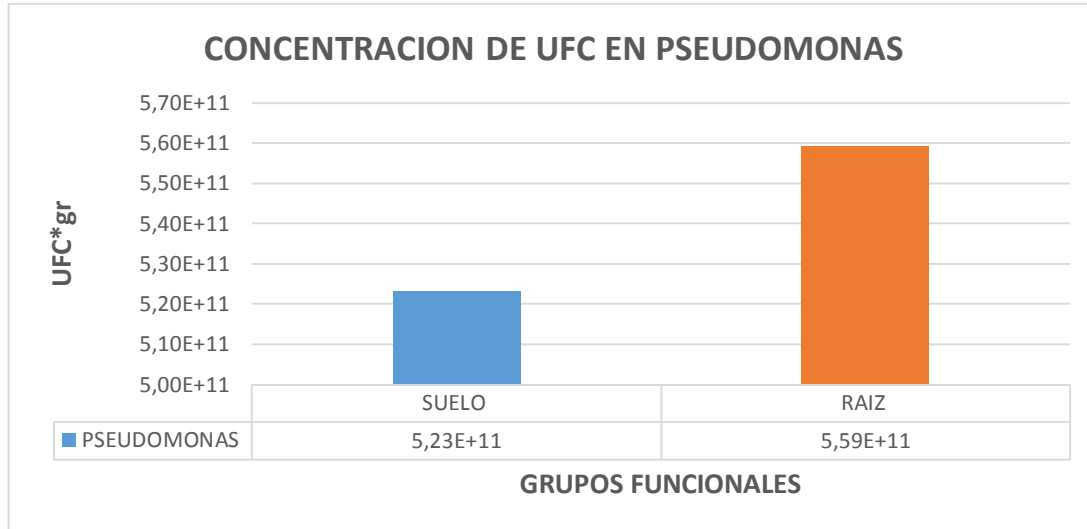
**Gráfico 12.** Concentración de colonias\*  $\text{gr}^{-1}$  del grupo funcional Pseudomonas.



Elaborado por: (Galo Armas, 2022)

Como se observa (grafico 12) existe presencia de pseudomonas con  $1,58 \cdot 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en la muestra de suelo y  $4,74 \cdot 10^6$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

**Gráfico 13. Concentración de ufc\*gr<sup>-1</sup> del grupo funcional pseudomonas.**



Elaborado por: (Galo Armas, 2022)

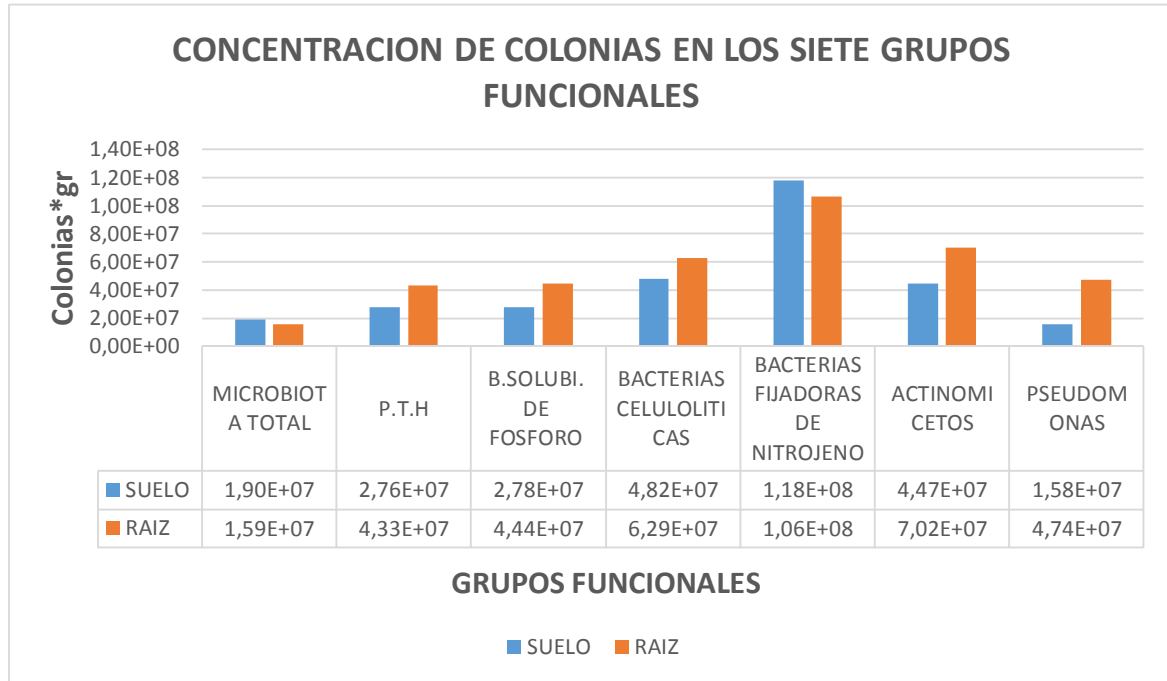
Como se observa (grafico 13) existe presencia de pseudomonas con  $5,23 \cdot 10^{11}$  ufc\*gr<sup>-1</sup> en la muestra de suelo y  $5,59 \cdot 10^{11}$  ufc\*gr<sup>-1</sup> en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

### 10.3 Concentración de colonias \*gr<sup>-1</sup> por grupo funcional en muestras de suelo y raíz.

**Tabla 4. Concentración de colonias\*gr-1 por grupo funcional en muestras de suelo y raíz**

Grupos Funcionales	Suelo	Raiz
MICROBIOTA TOTAL	1,90E+07	1,59E+07
P.T.H	2,76E+07	4,33E+07
B.SOLUBL. DE FOSFORO	2,78E+07	4,44E+07
BACTERIAS CELULOLITICAS	4,82E+07	6,29E+07
BACTERIAS FIJADORAS DE NITROJENO	1,18E+08	1,06E+08
ACTINOMICETOS	4,47E+07	7,02E+07
PSEUDOMONAS	1,58E+07	4,74E+07

Elaborado por: (Galo Armas, 2022)

**Gráfico 14. Concentración de colonias\* gr<sup>-1</sup> en siete grupos funcionales.**

**Elaborado por:** (Galo Armas, 2022)

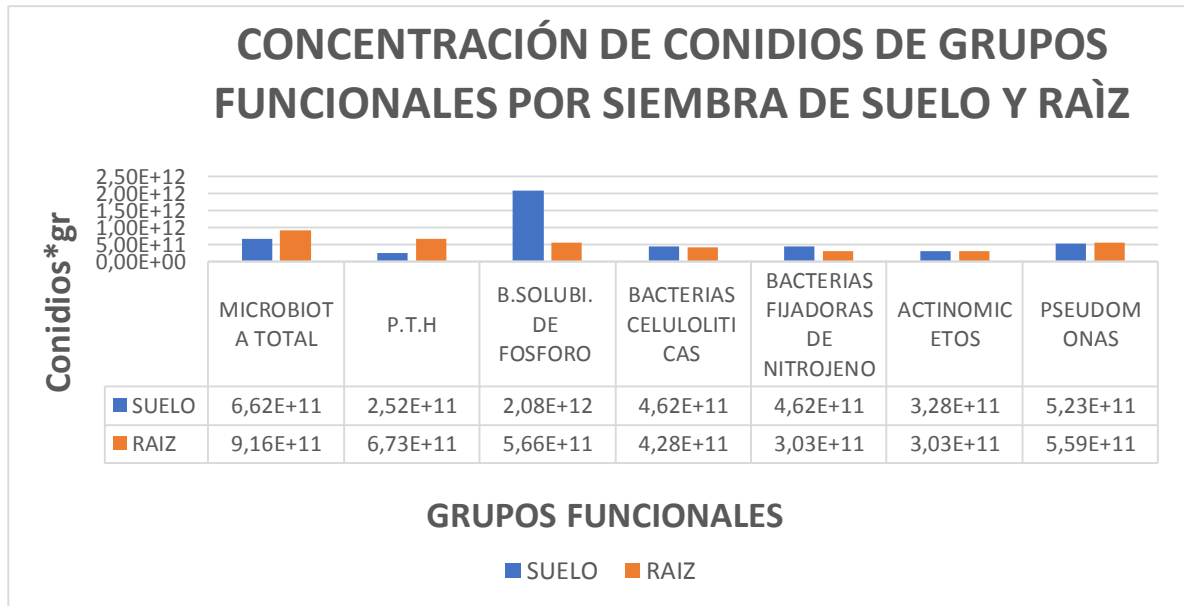
Como se observa (grafico 14) de los grupos funcionales y colonias en la rizosfera de la papa a 3100 msnm. Existe presencia de todos los grupos investigados, siendo los de mayor número de colonias las Bacterias Fijadoras de Nitrógeno con  $1,18 \times 10^8$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en suelo, Bacterias Celulolíticas con  $4,82 \times 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en suelo y Actinomicetos con  $4,47 \times 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en suelo, en la muestra de raíz se encontró todos los grupos estudiados siendo los más representativos Bacterias Fijadoras de Nitrógeno con  $1,06 \times 10^8$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en raíz, Actinomicetos con  $7,02 \times 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup> en raíz y Bacterias Celulolíticas con  $6,29 \times 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup>.

Estos datos son diferentes con la investigación de (Nasimba, 2021), donde a 3800 msnm obtuvo mayor presencia de Actinomicetos  $2,0 \times 10^7$  colonias\*gr<sup>-1</sup>, los resultados obtenidos varían ya que la altura del suelo no es la misma; mientras que a 3100 se obtuvo mayor cantidad de colonias en bacterias fijadoras de nitrógeno con  $1,18 \times 10^8$  colonias\*gr<sup>-1</sup>, concordando con lo estipulado por (M. Lopez, 2010) esto puede deberse a que el suelo posee menos materia orgánica, e incide en su fertilidad lo que hace obligatoria la fijación biológica de nitrógeno para lo cual la reproducción masiva de estos microorganismos son necesarias.

**Tabla 5. Concentración de  $ufc*gr^{-1}$  por grupo funcional en muestras de suelo y raíz**

	CONIDIOS	SUELO	RAIZ
MICROBIOTA TOTAL		6,62E+11	9,16E+11
P.T.H		2,52E+11	6,728E+11
B.SOLUBI. DE FOSFORO		2,08E+12	5,664E+11
BACTERIAS CELULOLITICAS		4,62E+11	4,28E+11
BACTERIAS FIJADORAS DE NITROJENO		4,62E+11	3,032E+11
ACTINOMICETOS		3,28E+11	3,032E+11
PSEUDOMONAS		5,23E+11	5,592E+11

Elaborado por: (Galo Armas, 2022)

**Gráfico 15. Concentración de  $ufc* gr^{-1}$  en siete grupos funcionales**

Elaborado por: (Galo Armas, 2022)

Como se observa (gráfico 15) en los grupos funcionales y UFC en la rizosfera de la papa a 3100msnm, existe presencia de todos los grupos investigados, presentando mayor número de UFC Bacterias Solubilizadoras de Fósforo con  $2,08*10^{12}$   $ufc*gr^{-1}$ , Microbiota Total con  $6,62*10^{11}$   $ufc*gr^{-1}$  y Pseudomonas con  $5,23*10^{11}$   $ufc*gr^{-1}$ , en muestra de suelo, en la muestra de raíz se encontró todos los grupos estudiados teniendo mayor representación Microbiota Total con

$9,16 \cdot 10^{11}$  ufc\*gr<sup>-1</sup>, P.T.H con  $6,72 \cdot 10^{11}$  ufc\*gr<sup>-1</sup> y Bacterias Solubilizadoras de Fósforo con  $5,66 \cdot 10^{11}$  ufc\*gr<sup>-1</sup>.

Existe un comportamiento similar en las bacterias solubilizadoras de fósforo, para los dos pisos altitudinales con  $2,1 \cdot 10^{12}$  ufc\*gr<sup>-1</sup> a 3800msn , en comparación en los 3100 msnm, con  $2,08 \cdot 10^{12}$  ufc\*gr<sup>-1</sup> ,resultados que se asemejan al comportamiento mencionado por (Nasimba, 2021). Concordando con lo estipulado por (Calvo et al., 2008), mencionando el estudio comparativo de las dos alturas indica que respectivamente muestra una mayor población de bacterias solubilizadoras de fósforo, afirmando que influyen factores como el Ph del suelo siendo más alcalino, una altura menor y temperatura un poco mayor.

## 11. CONCLUSIONES

- Se identificó que en el piso altitudinal de 3100 los géneros con más presencia son Arenimonas con 2,530 lecturas acumuladas, seguido de Lactobacillus 860 lecturas acumuladas.
- Los géneros presentes con menores lecturas acumuladas fueron, Variovorax, Lysobacter, Ramlibacter, Mesorhizobium, Devosia, Legionella, Sphingomonas, Mucilaginibacter, Stenotrophomonas, Brevundimonas.
- Se determinó que el grupo funcional de mayor presencia en suelo y raíz del piso altitudinal de 3100 msnm son las Bacterias Fijadoras de Nitrógeno con  $1,18 \cdot 10^8$  colonias\*gr<sup>-1</sup>, y  $1,06 \cdot 10^8$  colonias\*gr<sup>-1</sup> respectivamente.
- Se determinó los grupos funcionales con mayor número de unidades formadoras de colonias (UFC) en suelo fueron, bacterias solubilizadoras de fósforo con  $2,08 \cdot 10^{12}$  ufc\*gr<sup>-1</sup>, y en raíz Microbiota Total con  $6,62 \cdot 10^{11}$  ufc\*gr<sup>-1</sup>.
- Se estableció que existe una relación entre el análisis metagenómico, los grupos funcionales y el análisis composicional del suelo.

## 12. RECOMENDACIONES

- Se recomienda establecer el análisis diferencial de la abundancia y distribución de los grupos funcionales en diferentes pisos altitudinales.
- Se recomienda identificar comunidades bacterianas en la filosfera del cultivo de la papa, para determinar las relaciones entre componen suelo y foliar.

### 13. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, M., & Tuca, F. (2018). Incidence of the inoculation of beneficial microorganisms in the strawberry (*Fragaria sp.*) crop. In *Scientia Agropecuaria* (Vol. 9, Issue 1). <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.04>
- Arrigo, N. (2001). Importancia de los mecanismos de intercepción radical, flujo masal y difusión de Ca, Mg, K y P en plantas de maíz en suelos pampeanos. In *Revista de la Facultad de agronomía (Buenos Aires)* (Vol. 6, Issue 3). <http://ri.agro.uba.ar/files/download/revista/facultadagronomia/1985arrigonm.pdf>
- Baez, F., Perdomo, C., Pincay, A., Tello, C., Villamizar, L., Jackson, T., Jaronski, S., & Viera, W. (2019). *Manual de analisis de calidad para formulaciones con base en hongos biocontroladores*. <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5553>
- Beltrán, M. (2015). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. In *Ciencia & Tecnología Agropecuaria* (Vol. 15, Issue 1). [https://doi.org/10.21930/rcta.vol15\\_num1\\_art:401](https://doi.org/10.21930/rcta.vol15_num1_art:401)
- Benjamin, W. (2019). Aplicacion de microorganismos y sus beneficios en suelos para la produccion agricola. In *ペインクリニック学会治療指針2* (Vol. 3).
- Bernal, G. (2015). LA MICROBIOLOGIA DE SUELOS EN EL ECUADOR : Situación actual de la investigación. *Sociedad Ecuatoriana de La Ciencia Del Suelo SECS*, 1–12.
- Bohorquez, M. (2007). *Aislamiento y evaluacion de microorganismos celuloliticos a partir de residuos vegetales frescos y en compost generados en un cultivo de crisantemo* (. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8296/tesis274.pdf?sequence=1>
- Braga, L. (2015). *Evaluación de la capacidad promotora del crecimiento vegetal de una cepa de Pseudomonas fluorescens y la influencia de su inoculación sobre la comunidad microbiana de la rizósfera de alfalfa*. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/8456/1/uy24-17746.pdf>
- Calvo, P., Meneses, L., & Zúñiga Dávila, D. (2008). ESTUDIO DE LAS POBLACIONES MICROBIANAS DE LA RIZÓSFERA DEL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum*)



- EN ZONAS ALTOANDINAS. *Ecología Aplicada*, 7(1–2), 141.  
<https://doi.org/10.21704/rea.v7i1-2.369>
- Castellanos, M. (2007). *BACTERIAS FIJADORAS DE NITROGENO EN EL SUELO* [Universidad Católica Argentina.]. <https://www.fertilab.com.mx/Sitio/notas/BACTERIAS-FIJADORAS-DE-NITROGENO-EN-EL-SUELO.pdf>
- Connor, J. (2019). *Descifrando El Contenido Microbiano De Bioinsumos Comerciales Para El Diseño De Un Consorcio Con Potencial Biofertilizante*. [https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS\\_DESARROLLO\\_DE\\_CONSORCIO\\_BIOFERTILIZANTE.JO\\_Empastado.pdf](https://repositorio.unan.edu.ni/12693/1/TESIS_DESARROLLO_DE_CONSORCIO_BIOFERTILIZANTE.JO_Empastado.pdf)
- Conrado, V. (2003). Identificación de algunos grupos funcionales orgánicos de interés bioquímico. In *Departamento de Bioquímica y Biología Molecular*,. [https://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimica-biol-mol/pdfs/19 GRUPOS\\_FUNCIONALES.pdf](https://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimica-biol-mol/pdfs/19_GRUPOS_FUNCIONALES.pdf)
- Cruz, O. (2018). *Calidad Nutraceutica y Contenido Mineral del Cultivo de Pimiento Morròn (Capsicum annuum) Inoculado con Rizobacterias y Endomicorrizas* [UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO]. [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/45102/Cruz Pérez%2COtoniel.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/45102/Cruz_Pérez%2COtoniel.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Garcés, E. (2015). Morfología y Clasificación de los Hongos. In *Departamento De Biología Facultad De Ciencias Universidad Nacional De Colombia*. [http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad\\_de\\_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/Portadas\\_Libros/Biologia/Morfologia\\_y\\_Clasificacion\\_de\\_los\\_Hongos/Morfologia\\_y\\_clasificacion\\_de\\_los\\_hongos\\_libro.pdf](http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/Portadas_Libros/Biologia/Morfologia_y_Clasificacion_de_los_Hongos/Morfologia_y_clasificacion_de_los_hongos_libro.pdf)
- García, S. C. (2011). Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. *Ct*, 3, 173–186. <file:///C:/Users/pc/Downloads/Dialnet-BacteriasSimbioticasFijadorasDeNitrogeno-3761553.pdf>
- Gómez, M. (2019). *Estudio de la degradación de suelos y tierras por desertificación en la jurisdicción de La Car.*

[https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/7798/Trabajo de grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/7798/Trabajo_de_grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Gonzales, Y. (2010). *LOS ACTINOMICETOS: UNA VISIÓN COMO PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL.*

<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8665/tesis618.pdf;sequence>

Loaiza, D. (2017). BACTERIAS CELULOLÍTICAS CON CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS DEL INTESTINO DE TERMITAS Y SU EVALUACIÓN COMO POTENCIALES DEGRADADORAS DE TOTORA (*Schoenoplectus tatora*). *Universidad Nacional Del Altiplano*, 1–109.

[http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/7104/Molleapaza\\_Mamani\\_Joel\\_Nef\\_tali.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/7104/Molleapaza_Mamani_Joel_Nef_tali.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Lopez, B. (2019). *Las Bacterias Concepto*. <http://www.bio-nica.info/biblioteca/bacterias.pdf>

Lopez, M. (2010). *Evaluación De La Microbiota Presente En Suelos*. [http://sappi.ipn.mx/cgpi/archivos\\_anexo/20060774\\_3577.pdf](http://sappi.ipn.mx/cgpi/archivos_anexo/20060774_3577.pdf)

Nasimba, N. (2021). *Universidad Tecnica De Cotopaxi Postulante*. UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI.

Pozuelo, J. (1991). *Memoria que para optar al Grado de Doctor en Ciencias Biológicas presenta D . Jose Manuel Pozuelo González V ~ Bc ~ El Dr . D . Francisco Bermúdez de Castro y Naya.*

Probanza, A. (2012). La rizosfera: un “criptoecosistema” vital. Aspectos básicos y aplicados. *Conama, Congreso Nacional Del Medio Ambiente*, 1–17. <http://www.conama2012.conama.org/conama10/download/files/conama11/CT2010/1896700116.pdf>

Reyes. (2007). Efecto de la Fertilidad del Suelo sobre la Microbiota Y La Promoción Del Crecimiento del Maiz. *Bioagro*, 19(3), 117–126.

Reyes, A. (2019). *Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) y su aporte en la nutrición mineral de tomate (Lycopersicon sculentum L.).*

[http://repositorio.udec.cl/jspui/bitstream/11594/935/1/Tesis Rizobacterias promotoras.pdf](http://repositorio.udec.cl/jspui/bitstream/11594/935/1/Tesis_Rizobacterias_promotoras.pdf)

Rodríguez, L. E. (2010). Origen y evolución de la papa cultivada. Una revisión. In *Agronomía Colombiana* (Vol. 28, Issue 1). <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v28n1/v28n1a02.pdf>

Salinas, J. D. (2019). *Evaluación del Potencial Celulolítico por Bacterias y Hongos a Diferentes Concentraciones de Diésel de Suelo no Perturbado y Disturbado del Piedemonte Llanero Obtenido del Instituto Agrícola Guacavía en el Municipio de Cumaral. Tesis (Título Profesional)* de. <https://repository.usta.edu.co/jspui/bitstream/11634/16793/1/2019josesalinas.pdf>

Sevilla, J. G. (2015). La importancia de la rizósfera. *Fertilab*, 2–3. [http://www.um.es/sabio/docs-cmsweb/aulademayores/importancia\\_de\\_la\\_atenciOn.\\_texto.pdf](http://www.um.es/sabio/docs-cmsweb/aulademayores/importancia_de_la_atenciOn._texto.pdf)

Soil, B. (2012). Microorganismos del suelo y biofertilización. In *Vida Sana*. [http://cultivos-tradicionales.com/upload/file/dossier-5\\_microorganismos-del-suelo-y-biofertilizacion-2.pdf](http://cultivos-tradicionales.com/upload/file/dossier-5_microorganismos-del-suelo-y-biofertilizacion-2.pdf)

Souza, J. (2021). *Universidade of São Paulo Luiz de Queiroz College of Agriculture The role of bacterial diversity on the antibiotic and herbicide biodegradation in agricultural soils Adijailton José de Souza Piracicaba.*

Velasco, & Jiménez, A. (2020). Rhizospheric bacteria with potential benefits in agriculture. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 343–355. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>

Zamudio, M. (2014). IMPORTANCIA Y ESTUDIOS DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS EN LOS RECURSOS Y PRODUCTOS PESQUEROS Studies and importance of microbial communities in shery resources and products. *Comunidades Microbianas En Los Productos Pesqueros*, 2(4), 99–115. <http://www.scielo.org.mx/pdf/era/v2n4/v2n4a8.pdf>

## 14. ANEXOS

**Anexo 1.** Metodología de Bernal 2015 (elaboración de medios de cultivos).

### MEDIOS DE CULTIVO

GRUPO FUNCIONAL Y MEDIO UTILIZADO	DOSIS
<p><b><u>POBLACIÓN TOTAL DE BACTERIA</u></b></p> <p><b>AGAR NUTRITIVO</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Agua destilada</li> <li>• Agar nutritivo</li> <li>• Ph</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1000 ml</li> <li>• 20 g/l</li> <li>• 7.0</li> </ul>
<p><b>PROCEDIMIENTO:</b></p> <p>En un frasco con tapa se coloca 1000 ml de agua destilada y se pesan 20 g de agar nutritivo. Se lo lleva a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizando en 7.0 con el uso de ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio 1N. Se lo esteriliza en la autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.</p>	

<b><u>POBLACIÓN TOTAL DE HONGOS</u></b>	
<b>AGAR ROSA DE BENGALA</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• D – Glucosa</li> <li>• Peptona micológica</li> <li>• Fosfato monopotásico</li> <li>• Sulfato de magnesio hidratado</li> <li>• Rosa de bengala</li> <li>• Estreptomicina</li> <li>• Agar</li> <li>• Agua destilada</li> <li>• pH</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 g/l</li> <li>• 5 g/l</li> <li>• 1 g/l</li> <li>• 0.5 g/l</li> <li>• 0.035 g /l</li> <li>• 30 mg/l</li> <li>• 15 g/l</li> <li>• 1000 ml</li> <li>• 5.5</li> </ul>
<b>PROCEDIMIENTO:</b>	
<p>En un recipiente con tapa se coloca 1000 ml de agua destilada en la que se va colocando todos los reactivos en las cantidades establecidas, excepto la estreptomicina. Se lo lleva a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizando en 5.5 con el uso de ácido clorhídrico diluido o hidróxido de sodio en solución. Se lo esteriliza en la autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.</p> <p>Luego, la estreptomicina se diluye en 10 ml de agua y se la añade antes de dispensar el medio en las respectivas cajas, con la ayuda de una jeringuilla y un filtro. La estreptomicina inhibe el desarrollo y crecimiento de bacterias, permitiendo que solo los hongos aparezcan.</p>	

<p><b><u>BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO</u></b></p> <p><b>AGAR RAMOS CALLAO</b></p> <p>Extracto de levadura</p> <p>Glucosa</p> <p>Fosfato tricálcico</p> <p>Agua destilada</p> <p>Agar</p> <p>pH</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 g/l</li> <li>• 20 g/l</li> <li>• 2 g/l</li> <li>• 1000 ml</li> <li>• 22 g/l</li> <li>• 7</li> </ul>
<p><b>PROCEDIMIENTO:</b></p> <p>En un recipiente con tapa se coloca 1000 ml de agua destilada en la que se va colocando el extracto de levadura, la glucosa y el fosfato tricálcico, en las cantidades indicadas. Se lo lleva a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizando en 7.0 con el uso de ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio 1 N, se añade el agar y luego se lo esteriliza en la autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión</p>		

<p><b><u>BACTERIAS CELULOLÍTICAS</u></b></p> <p><b>AGAR EXTRACTO DE SUELO</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fosfato dibásico de potasio (<math>\text{PO}_4\text{HK}_2</math>)</li> <li>• Nitrato de amonio (<math>\text{NO}_3\text{NH}_4</math>)</li> <li>• Carboximetilcelulosa</li> <li>• Agar</li> <li>• Extracto de suelo</li> <li>• pH</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0.5 g/l</li> <li>• 0.15 g/l</li> <li>• 1.25 g/l</li> <li>• 20 g/l</li> <li>• 100 ml</li> <li>• 6.5</li> </ul>
---	--	--

**PROCEDIMIENTO:**

En un recipiente con tapa se coloca 850 ml de agua destilada en la que se va colocando el fosfato dibásico de potasio y el nitrato de amonio en las cantidades indicadas. Los 850 ml van en función de los restantes volúmenes que se van a utilizar (carboximetilcelulosa y extracto de suelo).

La carboximetilcelulosa se diluye en 50 ml de agua destilada, con la ayuda de un agitador y se lo coloca al calor y una vez que ha sido diluida se lo pone al medio final.

El extracto de suelo se obtiene mediante la recolección de tierra de jardín rica en humus. Se limpia la hojarasca o impurezas de la superficie, se toma aproximadamente 1 kilogramo de suelo el mismo que se tamiza a una malla menor a 2 mm, hasta obtener una muestra de 500 gramos. Luego en 1000 ml de agua corriente se coloca el suelo y se agita bien. Se esteriliza en erlenmeyer amplio en la autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión. Se lo retira y se deja decantar lo suficiente para luego filtrar a través de papel Whatman (papel filtro) en una bomba de vacío por lo menos dos veces. El filtrado es llevado a la centrifuga, a 3600 rpm, por 20 minutos. De la solución final se toma 100 ml y se añade a la solución inicial del medio de cultivo, se lo lleva a la agitadora y se regula el pH a 6.5, al final se añade el agar. El medio se lo esteriliza en la autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.

**ACTINOMICETOS****AGAR CASEÍNA**

- |                                   |        |
|-----------------------------------|--------|
| • Almidón soluble                 | • 10g  |
| • Caseína                         | • 1g   |
| • KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | • 0.5g |
| • Agar                            | • 10g  |
| • pH                              | • 7.1  |

**PROCEDIMIENTO:**

En un recipiente con tapa se coloca 950 ml de agua destilada, se coloca la caseína, el fosfato monopotásico. El almidón debe ser diluido a parte al calor en 50 ml de agua destilada hasta que esté transparente, sin llegar a ebullición, entonces se lo pasa a la formulación final. Se lo lleva a la agitadora, se estabiliza el pH en 7.0, y se coloca el agar, para luego esterilizar en la autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.

**BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO****WATANABE**

- |                                   |                    |
|-----------------------------------|--------------------|
| • Glucosa                         | • 5 g/l            |
| • Manitol                         | • 5 g/l            |
| • Almidón                         | • 4.5 g/l          |
| • Ácido málico                    | • 3.5 g/l          |
| • Agar                            | • 1.75 g/l         |
| • pH                              | • 6.8 – 7.2        |
| • Solución II                     | • 50 ml            |
| • Solución III                    | • 15 ml            |
| • Bromotimol azul al 1% en etanol | • 2 ml             |
| • Agua destilada                  | • Aforar a 1000 ml |



<p><b>SOLUCIÓN I</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\text{H}_3\text{BO}_3</math></li> <li>• <math>\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>• <math>\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>• <math>\text{CuSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>• <math>\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>• Agua destilada</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 750 mg/l</li> <li>• 550 mg/l</li> <li>• 350 mg/l</li> <li>• 21.8 mg/l</li> <li>• 20 mg/l</li> <li>• 1000 ml</li> </ul>
<p><b>SOLUCIÓN II</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>• <math>\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>• <math>\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>• <math>\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}</math></li> <li>• EDTA ácido</li> <li>• Solución I</li> <li>• Agua destilada</li> </ul>	<p>0.8 g/l</p> <p>4.0 g/l</p> <p>0.1180 g/l</p> <p>4 g/l</p> <p>0.8 g/l</p> <p>4 ml/l</p> <p>1000 ml</p>
<p><b>SOLUCIÓN III</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\text{KH}_2\text{PO}_4</math></li> <li>• <math>\text{K}_2\text{HPO}_4</math></li> <li>• Agua destilada</li> </ul>	<p>40 g/l</p> <p>60 g/l</p> <p>1000 ml</p>

**PROCEDIMIENTO:**

Para preparar 1000 ml de medio watanabe se mide 500 ml de agua destilada en una botella con tapa rosca, se coloca la glucosa, el manitol y el ácido málico. El almidón se diluye al calor en 50 ml de agua destilada, una vez bien diluido se lo añade al medio, tomando en cuenta todos los volúmenes agregados. Se añade las soluciones II y III (tomando los reactivos en las cantidades indicadas) se toman los volúmenes especificados y se añade al medio de cultivo.

El bromotimol azul al 1% en etanol se prepara pesando 1 g de este reactivo y diluyendo en 100 ml de etanol; de lo cual se toma 2 ml en 1000 ml de medio, con la ayuda de una pipeta.

Se suman los volúmenes indicados y se descuentan para saber la cantidad faltante para completar 1000 ml. Se nivela el pH entre 6.8 y 7.2 y se coloca el agar.

Se coloca 6 ml en cada tubo y se esteriliza a 15 libras por 15 minutos en la autoclave. Luego dentro de la cámara de flujo se siembran 0.2 ml de la dilución de la muestra correspondiente.

**PSEUDOMONAS**

B de King

**COMPOSICIÓN TEÓRICA** (g/l de agua destilada) El medio King B se elabora de acuerdo con la fórmula teórica descrita por King, Ward y Raney (1).

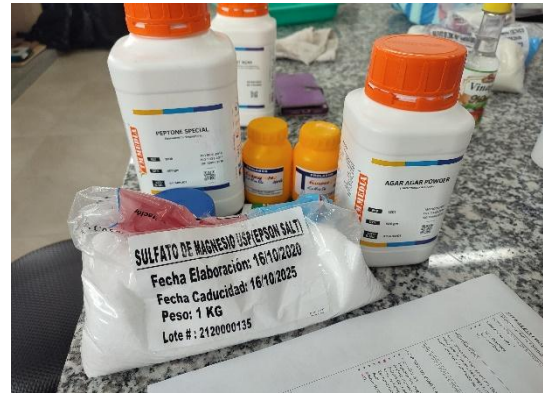
- Peptona 20
- Agar purificado 12
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (anhidro) 1,5
- MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O (anhidro) 1,5
- Solubizan

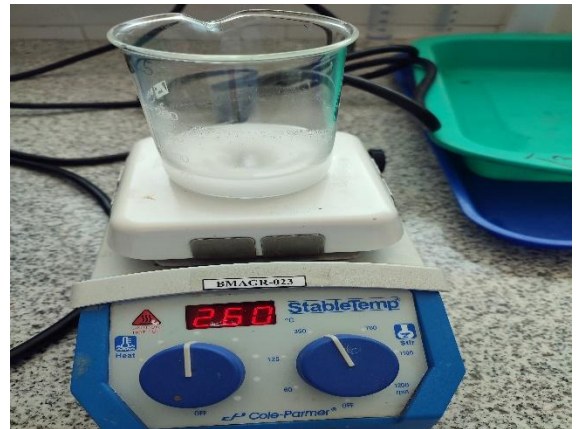
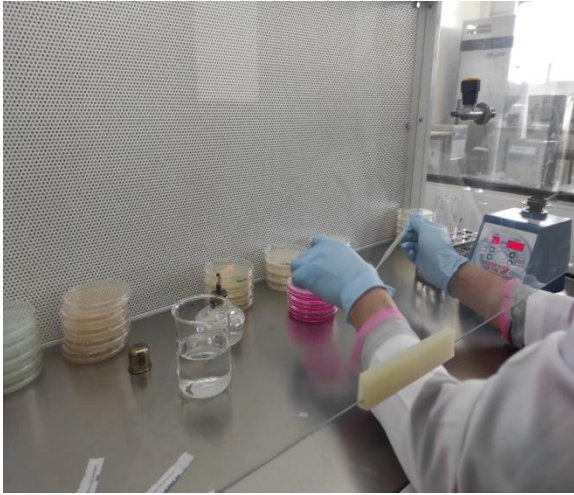
**Anexo 2. Recolección de muestras de suelo.**





### Anexo 3. Preparación de los medios de cultivo específicos para cada grupo funcionales.



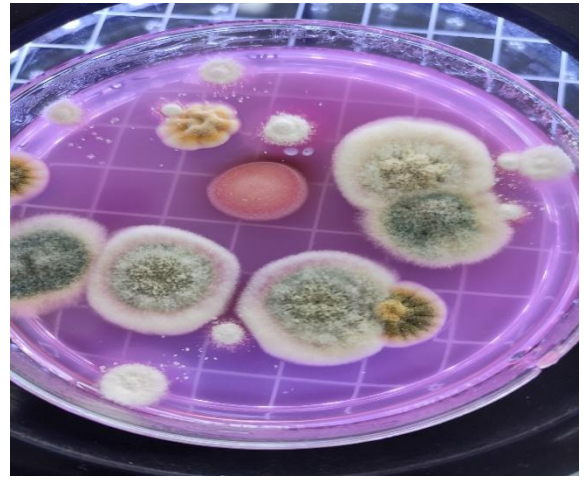
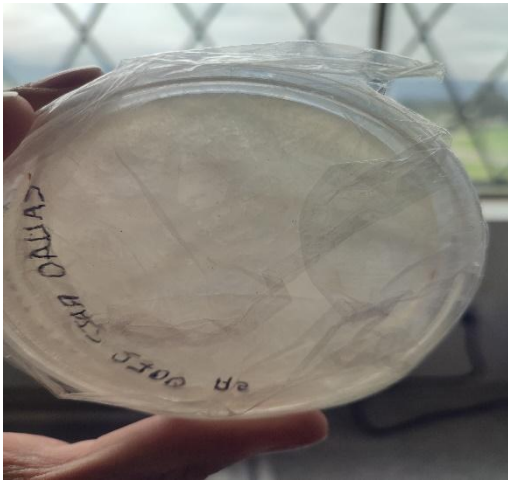
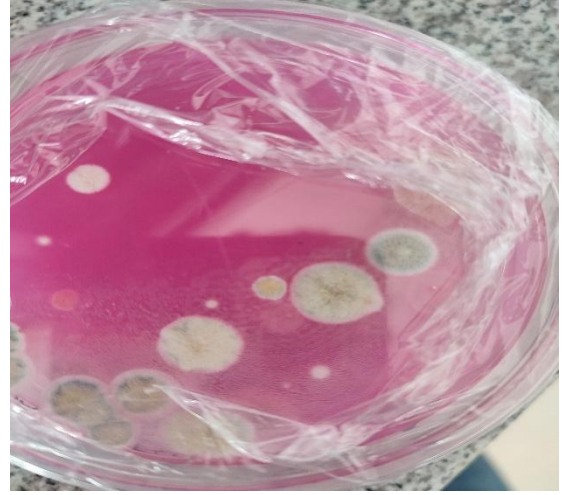




#### Anexo 4. Soluciones de muestras de suelo y tamización de raíces.

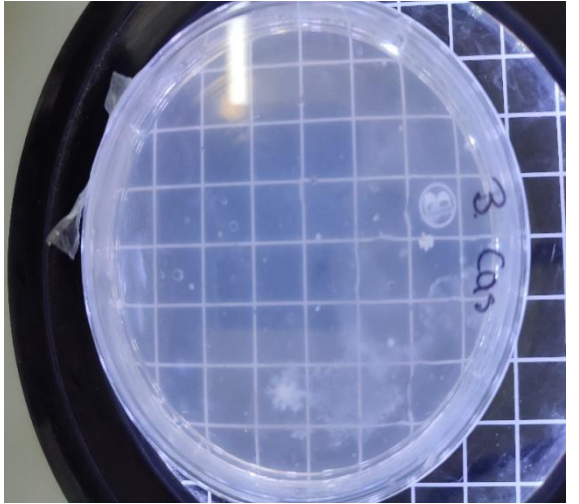
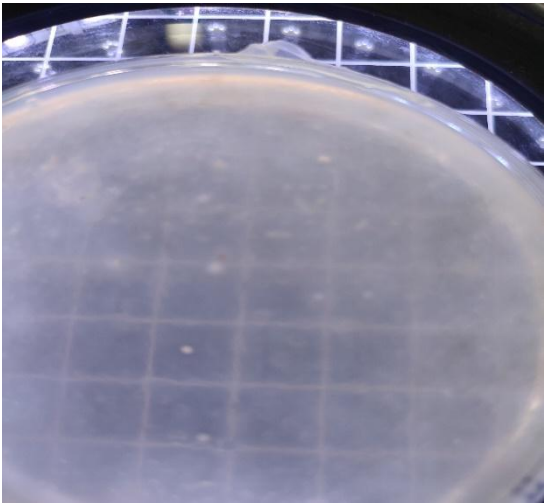
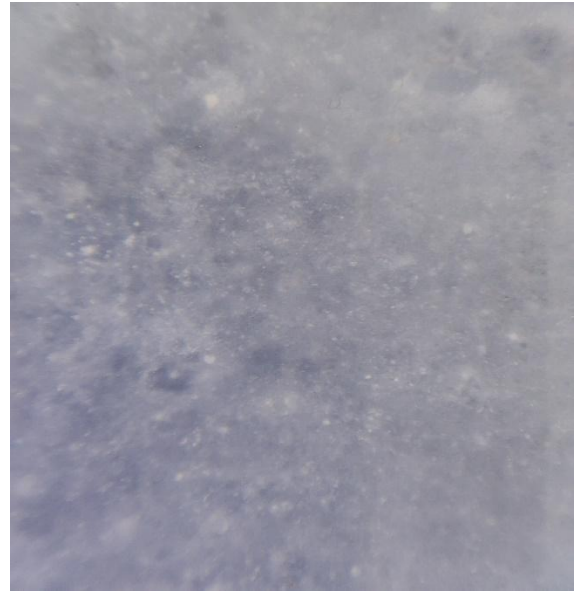
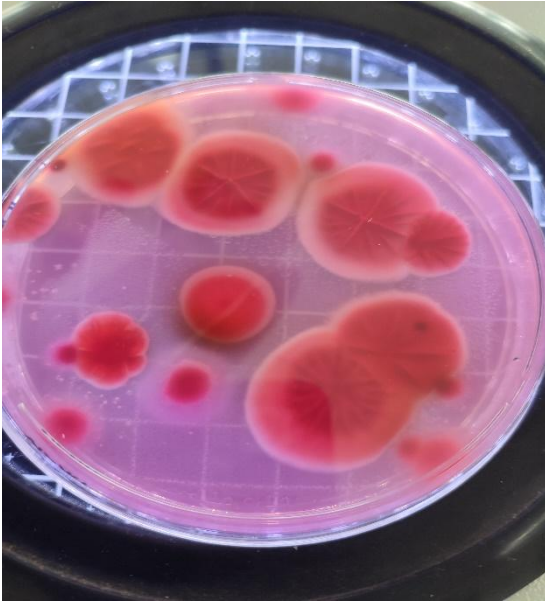
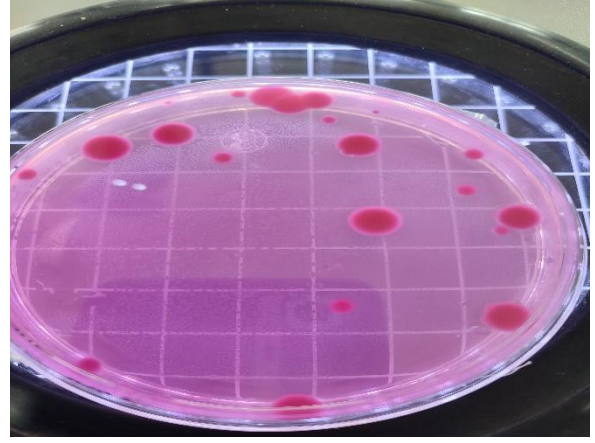
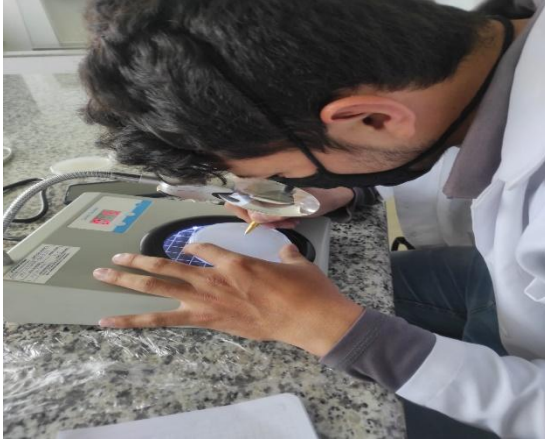


**Anexo 5. Verificación de hongos y bacterias.**

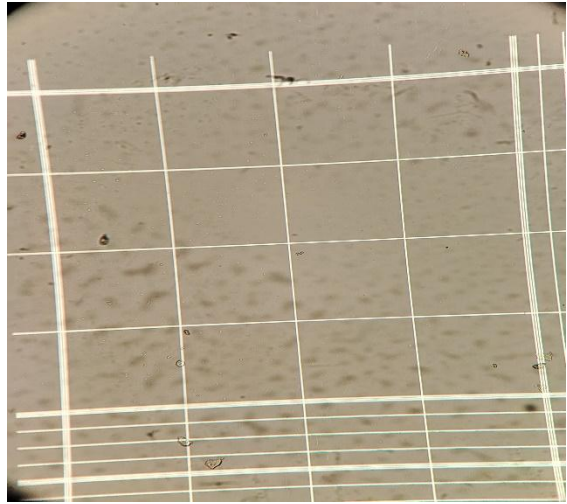




Anexo 6. Conteo de colonias y conidios en la cámara Neubauer.







### Anexo 7. Conteo de conidios, Grupo Funcional Microbiota Total (Suelo)

MEDIO DE CULTIVO	AGAR NUTRITIVO		
GRUPO FUNCIONAL	MICROBIOTA TOTAL		
VARIEDAD	SUPER CHOLA		
ALTITUD	3100 MSNM		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ		
	SUELO COLONIAS		RAIZ COLONIAS
E1	40	E6	65
E2	106	E7	76
E3	308	E8	105
E4	133	E9	173
E5	361	E10	376

CAJA E1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUM.TORIA	SUMATORIA/40	TOTA	FORMULA		
CUADRANTE 1	2	5	3	6	0	7	5	0	6	7	9	7	0	8	8	9	4	5	9	11	111	3,85	4,135	6,62E+11		
CUADRANTE 2	2	1	2	3	0	3	0	3	3	0	5	2	2	4	0	3	2	2	3	3	43					
CAJA E2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	3	6	2	0	5	2	4	1	7	5	6	2	1	5	7	9	5	6	12	3	91	4,575				
CUADRANTE 2	6	2	5	1	3	7	6	8	6	6	4	3	0	5	6	9	2	7	3	3	92					
CAJA E3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	9	3	0	7	1	6	1	4	9	6	6	5	0	3	5	8	0	7	7	8	95	5,525				
CUADRANTE 2	10	5	13	5	7	0	9	1	7	3	10	7	2	9	5	13	4	11	1	4	126					
CAJA E4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	3	0	4	3	5	1	0	0	2	6	6	2	6	8	9	7	1	4	9	8	84	3,0				
CUADRANTE 2	1	1	0	2	0	1	0	2	1	1	2	4	5	4	6	2	1	0	0	1	34					
CAJA E5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	8	0	3	1	1	2	1	3	2	1	2	1	3	0	4	0	8	12	1	2	55	3,8				
CUADRANTE 2	9	3	2	4	4	3	0	1	5	1	7	3	7	6	7	8	6	8	6	6	96					

Elaborado por: Armas Ochoa Galo Sebastian

**Anexo 8. Conteo de conidios, Grupo Funcional Microbiota Total (Raíz).**

CAJA E6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE 1	11	8	7	13	11	7	12	13	17	12	7	6	8	7	9	11	7	5	6	0	177	9,2	5,725	9,16E+11		
CUADRANTE 2	7	8	10	9	7	13	20	9	13	7	13	18	0	13	11	16	0	1	5	11	191					
CAJA E7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	9	8	5	6	10	0	2	8	11	8	0	0	7	7	5	5	6	2	8	0	107	5,2				
CUADRANTE 2	3	0	5	4	6	7	9	6	0	1	7	5	8	7	8	0	11	0	13	1	101					
CAJA E8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	1	0	2	3	2	14	6	0	3	1	1	0	0	2	4	0	0	2	0	1	42	2,35				
CUADRANTE 2	4	3	2	0	7	3	2	0	3	5	2	6	0	1	3	0	2	8	0	1	52					
CAJA E9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	0	0	1	0	0	3	9	0	0	5	0	0	2	4	0	0	0	2	6	2	34	3,05				
CUADRANTE 2	1	6	0	3	5	2	0	6	0	8	6	20	7	0	3	0	1	9	6	5	88					
CAJA E10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	7	4	8	8	10	11	10	11	5	6	11	10	3	8	9	7	17	15	4	8	172	8,825				
CUADRANTE 2	10	9	4	7	8	14	5	10	10	11	5	13	7	10	11	11	6	8	12	10	181					

**Elaborado por:** Armas Ochoa Galo Sebastian

### Anexo 9. Cuento de conidios, Grupo Funcional Población Total de Hongos (Suelo)

MEDIO DE CULTIVO		ROSA DE BENGALA																																						
GRUPO FUNCIONAL		POBLACION TOTAL DE HONGOS																																						
VARIEDAD		SUPER CHOLA																																						
ALTITUD		3100 MSNM																																						
TIPO DE MUESTRA		SOLUCION DE SUELO, RAIZ																																						
SUELO COLONIAS										RAIZ COLONIAS																														
A1		349										A6		230																										
A2		140										A7		406																										
A3		194										A8		663																										
A4		435										A9		321																										
A5		264										A10		546																										
CAJA A1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA																
CUADRANTE 1	2	2	1	3	2	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	2	2	1	2	2	26	2,45			1,575	2,52E+11														
CUADRANTE 2	2	3	0	4	1	4	0	3	3	2	1	3	7	6	4	3	4	3	6	13	72						2,075	1,575	2,52E+11											
CAJA A2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40								TOTAL	FORMULA									
CUADRANTE 1	3	1	1	0	3	3	2	3	1	3	0	3	1	2	1	5	3	1	2	1	39	2,075					1,575					2,52E+11								
CUADRANTE 2	1	0	3	2	4	1	1	0	1	0	2	1	0	2	2	2	3	11	5	3	44												1,35	1,575	2,52E+11					
CAJA 3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40														TOTAL	FORMULA			
CUADRANTE 1	1	1	1	0	1	3	3	0	1	0	4	1	2	0	5	2	2	0	0	1	28	1,35											1,575					2,52E+11		
CUADRANTE 2	1	2	1	0	1	1	1	0	2	3	0	3	2	0	1	2	1	1	3	1	26																		0,8	1,575
CAJA A4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40																		
CUADRANTE 1	1	3	0	1	1	2	1	2	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1	18	0,8	1,575	2,52E+11																
CUADRANTE 2	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	2	1	1	0	1	1	0	2	14				1,2	1,575													2,52E+11	
CAJA A5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40						TOTAL	FORMULA											
CUADRANTE 1	1	1	0	0	1	0	2	1	1	0	0	2	0	2	3	1	0	1	1	2	19	1,2			1,575					2,52E+11										
CUADRANTE 2	3	3	3	1	1	1	0	2	1	2	0	1	1	0	5	0	0	2	0	3	29										1,575	2,52E+11								

Elaborado por: Armas Ochoa Galo Sebastian

**Anexo 10. Conteo de conidios, Grupo Funcional Población Total de Hongos (Raíz)**

CAJA A6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE 1	1	7	4	10	8	12	5	2	15	5	1	3	9	8	6	5	19	9	10	6	145	5,4	4,205	6,73E+11		
CUADRANTE 2	1	4	8	6	5	3	3	8	2	7	8	0	0	4	2	0	2	0	5	3	71					
<b>CAJA A7</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	1	0	0	0	5	1	0	0	2	25	1	0	4	1	1	0	0	13	0	5	59	2,3				
CUADRANTE 2	1	2	0	0	1	0	1	5	4	2	0	1	0	5	3	1	1	4	1	1	33					
<b>CAJA A8</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	7	2	3	12	19	2	5	2	3	5	2	4	3	3	0	3	4	1	0	1	81	2,9				
CUADRANTE 2	0	11	0	0	1	1	0	0	1	2	0	0	1	0	2	0	9	0	4	3	35					
<b>CAJA A9</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	2	6	23	3	31	16	6	2	7	9	7	10	8	6	15	7	3	2	3	13	179	8,1				
CUADRANTE 2	12	9	2	5	12	4	5	1	9	4	1	2	11	17	1	3	14	6	15	12	145					
<b>CAJA A10</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	1	1	7	2	10	1	1	0	11	3	17	6	1	1	5	4	2	0	3	2	78	2,325				
CUADRANTE 2	0	0	1	1	2	0	0	2	0	3	1	1	0	1	0	0	0	1	0	2	15					

**Elaborado por:** Armas Ochoa Galo Sebastian

**Anexo 11. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Solubilizadoras de Fósforo (Suelo)**

MEDIO DE CULTIVO	RAMOS CALLAO																									
GRUPO FUNCIONAL	BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFORO																									
VARIEDAD	SUPER CHOLA																									
ALTITUD	3100 MSNM																									
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ																									
	SUELO COLONIAS										RAIZ COLONIAS															
C1	291										C6	286														
C2	264										C7	811														
C3	354										C8	258														
C4	267										C9	310														
C5	215										C10	553														
<b>CAJA C1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE 1	7	16	11	23	27	22	43	18	21	24	22	12	23	9	26	12	9	15	9	3	352	15,7	13,02	2,08E+12		
CUADRANTE 2	22	15	31	11	13	10	16	18	13	14	8	27	11	8	11	2	23	8	9	7	277					
<b>CAJA C2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	3	2	5	4	7	6	7	9	11	15	3	9	8	4	12	4	4	4	14	5	136	6,7				
CUADRANTE 2	6	2	19	8	5	2	11	4	9	12	1	7	1	2	10	5	1	1	3	21	130					
<b>CAJA C3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	2	1	0	3	1	2	2	1	0	9	5	3	3	1	9	3	1	0	2	1	49	4,5				
CUADRANTE 2	1	9	1	6	11	11	6	5	9	4	11	5	2	2	4	7	4	9	12	13	132					
<b>CAJA C4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	2	1	4	2	9	5	3	2	4	15	2	1	9	3	2	1	0	7	2	1	75	3,7				
CUADRANTE 2	3	1	7	1	10	3	1	2	11	5	1	5	2	2	7	3	1	1	4	1	71					
<b>CAJA C5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	2	2	1	6	2	1	7	4	13	1	2	13	7	2	4	4	5	4	1	6	87	5,6				
CUADRANTE 2	13	11	1	7	5	1	2	2	6	7	8	2	8	3	9	7	9	8	11	15	135					

**Elaborado por:** Armas Ochoa Galo Sebastian

**Anexo 12. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Solubilizadoras de Fósforo (Raíz).**

CAJA C6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE 1	2	3	4	3	8	1	7	2	2	5	2	8	3	2	1	11	2	1	2	8	77	4,6	3,54	5,66E+11		
CUADRANTE 2	4	5	7	5	16	5	2	3	7	6	5	4	1	2	5	4	7	9	3	5	105					
CAJA C7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	3	5	6	9	9	17	9	3	3	13	6	3	7	8	6	7	8	8	6	11	147	8,0				
CUADRANTE 2	3	5	11	9	8	21	8	2	6	8	28	2	2	6	8	11	14	9	6	4	171					
CAJA C8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	2	1	1	2	2	4	3	1	3	1	2	1	2	1	5	5	2	3	2	12	55	2,925				
CUADRANTE 2	2	1	0	5	1	1	2	5	0	1	1	11	2	1	0	5	11	2	2	9	62					
CAJA C9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	3	0	2	0	1	5	1	3	4	6	4	1	5	1	2	1	1	2	3	1	45	2,3				
CUADRANTE 2	3	1	1	2	5	0	1	2	8	3	5	2	1	2	3	2	6	1	3	0	46					

**Elaborado por:** Armas Ochoa Galo Sebastian

### Anexo 13. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Celulolíticas (Suelo)

MEDIO DE CULTIVO	EXTRACTO DE SUELO		
GRUPO FUNCIONAL	BACTERIAS CELULOLITICAS		
VARIEDAD	SUPER CHOLA		
ALTITUD	3100 MSNM		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ		
	SUELO COLONIAS		RAIZ
F1	536	F6	346
F2	400	F7	988
F3	464	F8	577
F4	650	F9	807
F5	362	F10	427

CAJA F1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA
CUADRANTE 1	0	1	6	1	8	0	2	0	1	3	0	1	3	1	0	0	5	1	2	3	38	1,925	2,885	4,616E+11
CUADRANTE 2	0	2	1	0	0	0	1	0	3	0	1	2	0	2	21	1	0	2	1	2	39			
CAJA F2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		1,8		
CUADRANTE 1	0	0	2	1	3	3	1	0	0	1	1	0	5	3	1	3	2	8	3	0	37			
CUADRANTE 2	2	0	0	1	0	1	2	0	1	17	1	0	2	1	0	1	4	1	0	1	35			
CAJA F3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		3,875		
CUADRANTE 1	1	0	3	1	13	0	3	2	1	1	0	0	3	3	7	5	1	3	9	12	68			
CUADRANTE 2	3	1	0	14	3	0	9	3	1	0	2	11	3	8	6	0	3	9	11	0	87			
CAJA F4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		4,35		
CUADRANTE 1	2	11	0	5	19	3	5	0	1	15	3	0	0	1	17	0	1	2	11	2	98			
CUADRANTE 2	0	0	0	1	9	1	5	3	1	12	0	1	9	1	1	0	13	3	0	16	76			
CAJA F5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		2,475		
CUADRANTE 1	1	0	2	0	1	1	18	0	2	1	6	21	3	7	3	0	0	1	24	8	99			
CUADRANTE 2	3	0	3	7	12	3	9	0	2	1	3	1	2	1	0	2	6	7	3	9	74			

Elaborado por: Armas Ochoa Galo Sebastian



**Anexo 14. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Celulolíticas (Raíz).**

CAJA F6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA
CUADRANTE 1	0	1	0	0	1	2	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	2	11	0,6	2,675	4,28E+11
CUADRANTE 2	1	0	1	0	0	0	1	1	2	0	1	0	1	0	1	0	0	1	2	1	13			
CAJA F7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		0,925		
CUADRANTE 1	0	0	1	0	1	1	2	1	1	1	0	1	0	1	3	1	0	0	2	1	17			
CUADRANTE 2	0	1	1	2	5	0	1	3	0	1	0	1	0	0	1	0	1	2	1	0	20			
CAJA F8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		10,4		
CUADRANTE 1	0	1	0	3	0	2	0	0	0	1	2	0	1	0	1	3	1	0	0	1	16			
CUADRANTE 2	0	0	1	0	2	3	1	0	1	0	0	2	5	0	1	1	0	1	3	5	26			
CAJA F9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		1,45		
CUADRANTE 1	1	0	1	0	3	0	1	0	2	5	0	0	2	1	5	4	0	1	0	2	28			
CUADRANTE 2	0	1	1	0	3	6	4	0	0	5	1	1	0	0	2	0	1	0	3	2	30			
CAJA F10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		1,275		
CUADRANTE 1	0	0	3	2	0	0	3	6	1	0	0	2	3	0	0	1	0	3	2	0	26			
CUADRANTE 2	0	1	0	3	2	0	0	1	2	0	0	3	0	2	1	0	0	2	8	0	25			

**Elaborado por:** Armas Ochoa Galo Sebastian

**Anexo 15. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (Suelo)**

MEDIO DE CULTIVO	WATANABE		
GRUPO FUNCIONAL	BACTERIAS FIJADORAS DE NITROJENO		
VARIEDAD	SUPER CHOLA		
ALTITUD	3100 MSNM		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ		
	SUEL COLONIAS		RAIZ COLONIAS
G1	1331	B6	1016
G2	1411	B7	1116
G3	1329	B8	1127
G4	980	B9	1209
G5	846	B10	850

CAJA B1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA
CUADRANTE 1	1	1	4	1	1	3	0	2	2	3	5	1	2	1	1	0	0	1	3	3	35	3,60	2,9	4,62E+11
CUADRANTE 2	4	1	3	4	5	6	10	4	7	5	5	12	2	8	6	1	4	5	9	8	109			
CAJA B2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
CUADRANTE 1	4	7	3	0	5	3	0	5	7	1	1	9	4	0	1	0	0	4	2	6	62	2,6		
CUADRANTE 2	5	9	4	3	1	6	6	10	1	5	1	0	1	4	5	1	3	1	3	13	62			
CAJA B3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
CUADRANTE 1	9	4	9	1	4	3	1	2	0	2	7	1	1	6	6	4	3	2	1	0	82	2,6		
CUADRANTE 2	2	0	0	1	3	0	0	0	5	3	2	1	5	1	6	2	1	3	0	1	66			
CAJA B4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
CUADRANTE 1	1	1	3	1	0	2	4	1	1	5	0	3	2	4	1	4	7	3	3	9	36	3,6		
CUADRANTE 2	2	2	3	0	3	5	5	2	1	1	1	4	4	2	2	5	4	1	3	0	36			
CAJA B5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
CUADRANTE 1	1	2	0	1	9	3	0	3	2	4	0	1	0	1	2	1	3	1	2	3	55	2,1		
CUADRANTE 2	1	6	2	1	2	0	5	2	0	6	1	3	7	0	1	2	2	0	1	1	50			

**Elaborado por:** Armas Ochoa Galo Sebastian

### Anexo 16. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (Raíz)

Elaborado por: Armas Ochoa Galo Sebastian

CAJA B6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE 1	4	5	7	1	0	5	2	3	0	1	1	2	2	0	6	1	1	2	1	2	46	3,1	1,9	3,0E+11		
CUADRANTE 2	0	4	7	4	1	5	0	4	4	8	3	3	3	1	2	7	4	8	0	9	77					
<b>CAJA B7</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	3	2	1	1	4	0	4	1	2	0	2	1	0	0	1	1	1	0	3	8	35	1,7				
CUADRANTE 2	1	0	2	2	3	3	1	2	1	4	0	1	1	2	0	1	3	3	0	2	32					
<b>CAJA B8</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	1	5	0	0	1	4	8	7	0	9	4	1	7	2	1	2	1	0	1	1	55	2,0				
CUADRANTE 2	4	0	1	1	3	1	0	0	1	1	0	0	2	1	1	0	1	4	1	2	24					
<b>CAJA B9</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	2	1	1	2	1	2	0	1	2	2	1	3	0	2	2	0	0	1	5	2	30	1,3				
CUADRANTE 2	1	2	0	3	1	0	0	1	2	1	1	0	1	1	3	1	0	3	1	1	23					
<b>CAJA B10</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	1	1	0	3	3	1	0	2	1	1	1	1	3	5	1	0	0	1	3	6	34	1,4				
CUADRANTE 2	1	1	0	1	3	1	0	1	2	1	0	0	1	0	3	1	0	2	3	2	23					

**Anexo 17. Conteo de conidios, Grupo Funcional Actinomicetos (Suelo)**

MEDIO DE CULTIVO	AGAR CASEINA																									
GRUPO FUNCIONAL	ACTINOMICETOS																									
VARIEDAD	SUPER CHOLA																									
ALTITUD	3100 MSNM																									
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ																									
SUEL COLONIAS										RAIZ COLONIAS																
B1	229					B6					888															
B2	403					B7					284															
B3	606					B8					698															
B4	532					B9					971															
B5	463					B10					669															
<b>CAJA B1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE 1	2	0	4	0	0	2	3	0	0	1	0	1	0	2	2	2	2	1	0	1	23	1,30	2,1	3,28E+11		
CUADRANTE 2	2	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	2	5	1	4	0	2	7	0	29					
<b>CAJA B2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	0	5	1	1	3	2	0	2	1	2	1	2	2	1	6	3	0	4	1	1	38	1,7				
CUADRANTE 2	3	1	0	2	1	0	1	1	4	0	0	2	1	6	0	0	1	2	6	0	31					
<b>CAJA B3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	9	4	9	1	4	3	1	2	0	2	7	1	1	6	6	4	3	2	1	0	66	2,6				
CUADRANTE 2	2	0	0	1	3	0	0	0	5	3	2	1	5	1	6	2	1	3	0	1	36					
<b>CAJA B4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	1	1	3	1	0	2	4	1	1	5	0	3	2	4	1	4	7	3	3	9	55	2,6				
CUADRANTE 2	2	2	3	0	3	5	5	2	1	1	1	4	4	2	2	5	4	1	3	0	50					
<b>CAJA B5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>						
CUADRANTE 1	1	2	0	1	9	3	0	3	2	4	0	1	0	1	2	1	3	1	2	3	39	2,1				
CUADRANTE 2	1	6	2	1	2	0	5	2	0	6	1	3	7	0	1	2	2	0	1	1	43					

**Elaborado por:** Armas Ochoa Galo Sebastian

**Anexo 18. Conteo de conidios, Grupo Funcional Actinomicetos (Raíz)**

CAJA B6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE 1	4	5	7	1	0	5	2	3	0	1	1	2	2	0	6	1	1	2	1	2	46	3,1	1,9	3,0E+11		
CUADRANTE 2	0	4	7	4	1	5	0	4	4	8	3	3	3	1	2	7	4	8	0	9	77					
CAJA B7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	3	2	1	1	4	0	4	1	2	0	2	1	0	0	1	1	1	0	3	8	35	1,7				
CUADRANTE 2	1	0	2	2	3	3	1	2	1	4	0	1	1	2	0	1	3	3	0	2	32					
CAJA B8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	1	5	0	0	1	4	8	7	0	9	4	1	7	2	1	2	1	0	1	1	55	2,0				
CUADRANTE 2	4	0	1	1	3	1	0	0	1	1	0	0	2	1	1	0	1	4	1	2	24					
CAJA B9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	2	1	1	2	1	2	0	1	2	2	1	3	0	2	2	0	0	1	5	2	30	1,3				
CUADRANTE 2	1	2	0	3	1	0	0	1	2	1	1	0	1	1	3	1	0	3	1	1	23					
CAJA B10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	1	1	0	3	3	1	0	2	1	1	1	1	3	5	1	0	0	1	3	6	34	1,4				
CUADRANTE 2	1	1	0	1	3	1	0	1	2	1	0	0	1	0	3	1	0	2	3	2	23					

**Elaborado por:** Armas Ochoa Galo Sebastian

**Anexo 19. Conteo de conidios, Grupo Funcional Pseudomonas (Suelo)**

MEDIO DE CULTIVO	B DE KING		
GRUPO FUNCIONAL	PSEUDOMONAS		
VARIEDAD	CHOLA		
ALTITUD	3100 MSNM		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ		
	SUELO COLONIAS		RAIZ
D1	228	D6	557
D2	131	D7	779
D3	161	D8	187
D4	137	D9	505
D5	133	D10	341

CAJA D1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE 1	1	1	0	0	1	0	1	2	2	0	1	0	1	1	0	2	0	2	0	3	18	1	3,27	5,23E+11		
CUADRANTE 2	1	1	0	1	4	0	0	1	1	1	3	0	0	1	0	1	5	1	1	0	22					
CAJA D2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	2	1	0	2	1	0	0	1	2	1	0	1	0	1	2	1	1	0	0	1	17	0,925				
CUADRANTE 2	2	1	1	1	0	7	0	1	0	1	0	2	0	0	1	0	1	0	0	2	20					
CAJA D3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	1	2	3	8	17	0	9	1	2	3	1	0	11	0	10	11	2	8	0	0	89	5,1				
CUADRANTE 2	0	1	2	4	24	11	11	9	3	9	3	0	1	1	22	3	2	0	5	4	115					
CAJA D4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	2	6	4	2	1	0	3	2	6	3	2	6	18	8	8	5	0	6	4	1	87	4,0				
CUADRANTE 2	6	4	6	3	5	2	8	2	3	2	5	4	3	3	2	0	1	1	2	9	71					
CAJA D5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	3	2	3	1	2	1	18	4	42	7	0	4	2	1	0	5	3	15	6	3	122	5,375				
CUADRANTE 2	11	7	3	1	0	0	11	1	13	0	1	6	4	2	9	2	11	3	2	6	93					



**Elaborado por:** Armas Ochoa Galo Sebastian

**Anexo 20. Conteo de conidios, Grupo Funcional Pseudomonas (Raíz)**

CAJA D6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE 1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	2	5	0	1	1	1	19	0,8	3,50	5,59E+11		
CUADRANTE 2	1	0	0	2	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	2	0	0	13					
CAJA D7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	0	1	0	1	0	0	4	2	0	0	2	2	0	0	7	0	0	3	0	0	22	1,35				
CUADRANTE 2	0	0	0	0	2	1	0	0	0	2	5	3	2	0	6	2	0	0	6	3	32					
CAJA D8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	6	4	3	9	10	9	1	3	10	8	4	0	7	14	0	0	15	9	6	15	133	6,275				
CUADRANTE 2	3	0	5	7	12	1	4	14	7	6	7	3	0	11	3	8	0	11	3	13	118					
CAJA D9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	4	2	3	3	0	3	1	1	0	0	6	4	0	3	0	3	0	10	0	6	49	2,85				
CUADRANTE 2	1	3	8	3	10	2	0	5	0	4	0	7	4	0	3	2	4	4	0	5	65					
CAJA D10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
CUADRANTE 1	4	2	5	4	1	1	11	6	4	8	3	4	2	7	8	3	10	8	3	2	96	5,825				
CUADRANTE 2	4	5	4	0	13	8	4	4	7	11	8	19	3	3	5	7	10	3	7	12	137					

**Elaborado por:** Armas Ochoa Galo Sebastian

## Anexo 21. Análisis de Suelo INIAP

	<b>INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS</b> <b>ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA</b> <b>LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS PLANTAS Y AGUAS</b> Panamericana Sur Km. 1. S/N Cutuglagua. Tífs. (02) 3007284 / (02)2504240 Mail: laboratorio.dsa@iniap.gob.ec	
---	--	---

## INFORME DE ENSAYO No: 22-0092

**NOMBRE DEL CLIENTE:** Chasi Vizuete Wilman Paolo  
**PETICIONARIO:** Chasi Vizuete Wilman Paolo  
**EMPRESA/INSTITUCIÓN:** Chasi Vizuete Wilman Paolo  
**DIRECCIÓN:** Pujilí

**FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRA:** 28/01/2022  
**HORA DE RECEPCIÓN DE MUESTRA:** 9:50  
**FECHA DE ANÁLISIS:** 31/01/2022  
**FECHA DE EMISIÓN:** 04/02/2022  
**ANÁLISIS SOLICITADO:** S4

Análisis	pH	N	P	S	B	K	Ca	Mg	Zn	Cu	Fe	Mn	Ca/Mg	Mg/K	Ca+Mg/K	Σ Bases	MO	CO.*	Textura (%)				IDENTIFICACIÓN															
																			Arena	Limo	Arcilla	Clase Textural																
22-0227	8,01	Me Al	150	A	59	A	5,3	B	0,47	B	1,78	A	17,27	A	5,23	A	2,0	B	6,2	A	58	A	4,4	B	3,30	2,94	12,66	24,27	1,8	M				45	40	15	FRANCO	Muestra 1
22-0228	7,49	N	135	A	209	A	187	A	2,69	A	2,89	A	22,41	A	7,85	A	2,6	B	4,7	A	79	A	8,9	M	2,86	2,72	10,48	33,14	3,1	A				59	30	11	FRANCO ARENOSO	Muestra 2

Análisis	Al+H*	Al*	Na *	C.E.	N. Total	N-NO3 *	K H2O*	P H2O*	Cl*	IDENTIFICACION

## OBSERVACIONES:

METODOLOGIA USADA	
pH = Suelo: Agua (1-2,5)	P K Ca Mg = Ollam Modificado
S,B = Fosfato de Calcio	Cu Fe Mn Zn = Ollam Modificado
	B = Curcúmina

## \* Ensayos no solicitados por el cliente

INTERPRETACION	
pH	Elemento
Ac = Acido	N = Neutro
LAc = Liger. Acido	LAI = Lige. Alcalino
PN = Prac. Neutro	AI = Alcalino
RC = Requieren Cal	T = Tóxico (Boro)

ABREVIATURAS	
C.E. =	Conductividad Eléctrica
M.O. =	Materia Orgánica

METODOLOGIA USADA	
C.E. =	Pasta Saturada
M.O. =	Dicromato de Potasio
Al+H =	Titración NaOH

INTERPRETACION		
Al+H, Al y Na	C.E.	M.O y Cl
B = Bajo	NS = No Salino	S = Salino
M = Medio	LS = Lig. Salino	MS = Muy Salino
T = Tóxico		M. = Medio
		A = Alto



RESPONSABLE DE LABORATORIO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.

Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

**NOTA DE DESCARGO:** La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigido únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.

\* Opiniones de interpretación, etc. que se indican en este informe constituye una guía para el cliente.

Fuente: INIAP





CENTRO  
DE IDIOMAS

## *AVAL DE TRADUCCIÓN*

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que:

La traducción del resumen al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: “**IDENTIFICACIÓN DE COMUNIDADES BACTERIANAS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), VAR. SÚPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3100 MSNM, CUTURIVI, COTOPAXI, 2022,**” presentado por: **Armas Ochoa Galo Sebastian**, egresado de la Carrera de: **Agronomía**, perteneciente a la **Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

Latacunga, abril del 2022

Atentamente,



#FirmaDigital  
MAYRA CLEMENCIA  
NOROÑA HEREDIA



CENTRO  
DE IDIOMAS

**Mg. Mayra Clemencia Noroña Heredia**  
**DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC**  
**CI: 0501955470**