



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“DETECCIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES (ACTINOMICETOS, BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO Y HONGOS) ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DEL CULTIVO DE PAPA (SOLANUM TUBEROSUM) EN LA PARROQUIA DE BELISARIO QUEVEDO SECTOR ILLUCHI- COTOPAXI- LATACUNGA.2021.”

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de
Ingeniera Agrónoma

Autora:

Arequipa Chuquilla Patricia Estefania

Tutor:

Chasi Vizuete Wilman Paolo Ing. Mg.

LATACUNGA – ECUADOR

Marzo 2021

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Arequipa Chuquilla Patricia Estefania, con cédula de ciudadanía No. 050342911-0; declaro ser la autora del presente proyecto de investigación: “Detección de grupos funcionales (actinomicetos, bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos) asociados a la rizosfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en la parroquia de Belisario Quevedo sector Illuchi- Cotopaxi-Latacunga.2021.” siendo el Ingeniero. Mg. Wilman Paolo Chasi Vizuite, 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, 10 de marzo del 2021

Patricia Arequipa Chuquilla
Estudiante
CC: 050342911-0

Ing. Mg. Paolo Chasi Vizuite
Docente tutor
CC: 050240972-5

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 **PATRICIA ESTEFANIA AREQUIPA CHUQUILLA**, identificada con **C.C. N° 050342911-0** de estado civil soltera y con domicilio en la parroquia de Guaytacama a quien en lo sucesivo se denominará como **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga, en calidad de Rector Encargado 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 **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - LA CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Agronómica, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“Detección de grupos funcionales (actinomicetos, bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos) asociados a la rizosfera del cultivo de papa (Solanum tuberosum) en la parroquia de Belisario Quevedo sector Illuchi- Cotopaxi- Latacunga.2021.”**, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. – Inicio de carrera: abril 2016 - agosto 2016 – Finalización: octubre 2020 - marzo 2021.

Aprobación en Consejo Directivo. - 26 de enero 2021

Tutor: Ing. Mg. Wilman Paolo Chasi Vizuete

Tema: “Detección de grupos funcionales (actinomicetos, bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos) asociados a la rizosfera del cultivo de papa (Solanum tuberosum) en la parroquia de Belisario Quevedo sector Illuchi- Cotopaxi- Latacunga.2021.”

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, **LA 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 **LA 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 **LA 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 **LA 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 **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la 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 09 días del mes de marzo del 2021.

Patricia Estefania Arequipa Chuquilla

Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga

LA CEDENTE

LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“Detección de grupos funcionales (actinomicetos, bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos) asociados a la rizosfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en la parroquia de Belisario Quevedo sector Illuchi- Cotopaxi- Latacunga.2021.” de Arequipa Chuquilla Patricia Estefania, 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, 10 de marzo del 2021

Ing. Mg. Wilman Paolo Chasi Vizuete

DOCENTE TUTOR

CC: 050240972-5

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE TITULACIÓN

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, la postulante: Patricia Estefania Arequipa Chuquilla, con el título de Proyecto de Investigación: “**DETECCIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES (ACTINOMICETOS, BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO Y HONGOS) ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DEL CULTIVO DE PAPA (SOLANUM TUBEROSUM) EN LA PARROQUIA DE BELISARIO QUEVEDO SECTOR ILLUCHI- COTOPAXI- LATACUNGA.2021.**”, 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, 10 de marzo del 2021

Lector 1 (presidente)

Ing. Mg. Klever Quimbiulco Sánchez

CC: 170956110-2

Lector 2

Ing. PhD. Carlos Torres Miño

CC: 050232923-8

Lector 3

Ing. Mgtr. Richard Molina Alvarez

CC: 120597462-7

AGRADECIMIENTO

En el presente trabajo dejo constancia mi agradecimiento a Dios y a la Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ingeniería Agronómica, por haberme abierto las puertas para formarme como profesional.

A todos y cada uno de los profesores, quienes con paciencia y dedicación supieron día a día impartir sus conocimientos.

De manera especial mi agradecimiento leal y profundo reconocimiento al Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuite, tutor de la tesis, quien me apoyó en la planificación, y desarrollo de la investigación.

A los Ingenieros Klever Quimbiulco, Carlos Torres y Richard Molina, quienes me brindaron su apoyo en la culminación del mi proyecto de investigación.

Patricia Estefania Arequipa Chuquilla

DEDICATORIA

A DIOS nuestro señor por darme la gran oportunidad de vivir, estudiar y ver la luz del día hasta hoy.

Con todo el amor a mis padres: Cesilia y Raúl que son los pilares fundamentales en mi vida, quienes, con su ejemplo de perseverancia, esfuerzo, trabajo, amor; han sido mi fortaleza, apoyo constante en todo el trayecto de mi vida para seguir adelante y culminar con mis estudios.

A mis hermanos con quienes he compartido los mejores momentos en el trayecto de mis logros, por estar acompañándome y apoyándome para poder realizarme como profesional.

Para mis hijos que es un nuevo comienzo de todas las cosas, la esperanza y un sueño de posibilidades.

Para Jorge que siempre ha estado a mi lado apoyándome y acompañándome moralmente en las buenas y las malas.

Patricia Estefania Arequipa Chuquilla

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “DETECCIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES (ACTINOMICETOS, BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO Y HONGOS) ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DEL CULTIVO DE PAPA (SOLANUM TUBEROSUM) EN LA PARROQUIA DE BELISARIO QUEVEDO SECTOR ILLUCHI- COTOPAXI- LATACUNGA.2021.”

Autor: Arequipa Chuquilla Patricia Estefania

RESUMEN

El cultivo de papa, requiere fertilización continua y uso de agroquímicos, deteriorando el medio ambiente y aumentando costos en la producción. Una alternativa a esta problemática es el uso de microorganismos nativos, capaces de proveer los nutrientes necesarios y disminuir el uso de agroquímicos. El presente trabajo de investigación se realizó en la Parroquia Belisario Quevedo, del cantón Latacunga. Tuvo como objetivo determinar la microbiota total y detectar la presencia de grupos funcionales como actinomicetos, bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos asociados a la rizosfera del cultivo de papa, mediante la prospección en laboratorio en suelo, en macerado de raíz y fragmentos de raíz en dos repeticiones, donde se determinó UFC*gr-1 y conidios*gr-1, para lo cual se utilizamos medios de cultivo específicos para cada grupo, y las observaciones se la realizo mediante disoluciones de 10⁻⁷ y 10⁻⁸. Y se comparó la cantidad de microorganismos presentes en las repeticiones y en los métodos de siembra.

De los datos obtenidos se determinó que a pesar de que el suelo es pobre en M.O posee gran cantidad de microbiota, esto incluye que existen elementos benéficos cuyo potencial puede ayudar en el crecimiento del cultivo. Las bacterias se identificaron mediante la determinación de características morfológicas y fisiológicas. En el primer caso, se observaron características de borde, elevación, consistencia y color de las bacterias individuales cultivadas en los medios. Las características morfológicas se comprobaron a través observación en el microscopio óptico. En conclusión, los suelos del Barrio Illuchi poseen microorganismos con potencial capacidad promotora de crecimiento vegetal, lo cual podrían ser aprovechados mediante un programa de control biológico reduciendo el uso de los fungicidas.

Palabras claves: Diversidad bacteriana, rizosfera, medios de cultivos, suelo, grupos funcionales, control biológico, fungicida.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES

THEME: "DETECTION OF FUNCTIONAL GROUPS (ACTINOMYCETES, NITROGEN-FIXING BACTERIA AND FUNGI) ASSOCIATED WITH THE RHIZOSPHERE OF POTATO CULTIVATION (SOLANUM TUBEROSUM) IN THE PARISH OF BELISARIO QUEVEDO SECTOR ILLUCHI- COTOPAXI- LATACUNGA.2021."

Author: Arequipa Chuquilla Patricia Estefania

ABSTRACT

Potato cultivation requires continuous fertilization and use of agrochemicals, deteriorating the environment and increasing production costs. An alternative to this problem is the use of native microorganisms, capable of providing the necessary nutrients and decreasing the use of agrochemicals. This research work was carried out in the Parish of Belisario Quevedo, of the canton of Latacunga. It aimed to determine the total microbiota and detect the presence of functional groups such as actinomycetes, nitrogen-fixing bacteria and fungi associated with the rhizosphere of potato culture, by laboratory surveying in soil, in root maceration and root fragments in two repetitions, where UFC*gr-1 and conidia*gr-1 were determined, for which specific culture media are used for each group, and observations were made through dissolutions of 10⁻⁷ and 10⁻⁸. And the number of microorganisms present in repetitions and planting methods was compared.

From the data obtained it was determined that although the soil is poor in M.O. it has a large amount of microbiota, this includes that there are beneficial elements whose potential can help in the growth of the crop. Bacteria were identified by determining morphological and physiological characteristics. In the first case, edge, elevation, consistency and color characteristics of individual bacteria cultured in the media were observed. Morphological characteristics were checked through observation under the optical microscope. In conclusion, the soils of the Illuchi Neighborhood have microorganisms with potential plant growth promoting capacity, which could be used through a biological control program reducing the use of fungicides.

Key words: Bacterial diversity, rhizosphere, culture media, soil, functional groups, biological control, fungicide.

INDICE DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
LA CEDENTE	
LA CESIONARIA	iv
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE TITULACIÓN	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
DEDICATORIA	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INDICE DE CONTENIDO	xi
INDICE DE CUADROS	xiii
INDICE DE FIGURAS	xiii
1.INFORMACIÓN GENERAL	1
2.JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	2
3.BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.	2
4.PROBLEMÁTICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
4.1Formulación del problema.....	3
5.OBJETIVOS	3
5.1Objetivo general	3
5.2Objetivos específicos	3
6.ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	4
7.FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	5
7.1.1Fundamentación teórica.....	5
7.1.2Importancia de los microorganismos del suelo.	5
7.1.3Microorganismos asociados a la rizosfera.....	5
7.1.4Bacterias de la rizosfera.....	5
7.1.5Bacterias Fijadoras de Nitrógeno	6
7.1.6Actinomicetos	6
7.1.7Hongos de la rizosfera	6
7.1.8Género Aspergillus sp.	6
7.1.10Género Trichoderma sp.	7
8.Origen de la papa.....	8

8.1.1 Clasificación taxonómica	8
8.1.2 Importancia de la papa.....	8
8.1.3 Principales enfermedades causadas por Omicetos y hongos.....	9
8.1.4 Enfermedades de origen bacteriano.....	9
8.1.5 Marchitez bacteriana.....	9
8.1.6 Medios de cultivo	10
8.1.7 Tipos de medios de cultivo.....	10
8.1.8 Preparación de medios de cultivo.....	10
8.1.9 Evaluación de grupos funcionales de microorganismos	10
9.METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	11
9.1. Metodología y Técnicas.....	11
9.1.1. Materiales de campo.....	11
9.1.2. Materiales y Equipos de laboratorio.....	11
9.1.3. Reactivos	12
9.2. Ubicación del área de estudio.....	12
9.3. Ubicación de la toma de muestras	13
9.4. Toma de muestras	14
9.4.1. Aislamiento de actinomicetos de suelo rizosférico.	15
9.4.2. Aislamiento de hongos.	15
9.4.3. Aislamiento de Fijadoras de nitrógeno.....	15
9.4.4. Aislamiento de la Microbiota total.	15
9.5. DISEÑO METODOLÓGICO	16
9.5.1. Tipo de Investigación	16
9.6. METODOLOGÍA MÉTODOS	16
9.7. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	16
9.8. Recuento de hongos, Fijadoras de nitrógeno, Actinomicetos y Microbiota Total en cámara de Neubauer.....	17
10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	18
10.1 Resultados de colonias de los grupos funcionales obtenidos por dos métodos de siembra	19
10.2 Resultados de colonias de los grupos funcionales obtenidos por dos métodos de siembra	20
10.3 Resultados de colonias de los grupos funcionales obtenidos por dos métodos de siembra	21
11. CONCLUSIONES	22
12. RECOMENDACIONES	23

13.BIBLIOGRAFÍA	24
ANEXOS	26
ANEXO 1: Aval de traducción.....	27
ANEXO 2: Ubicación geográfica de la Universidad Técnica de Cotopaxi extensión Salache.....	28
TITULO:Bachiller en Ciencias Físico Matemáticas	29
ANEXO 4: Aislamiento y selección de grupos funcionales de la rizosfera de la papa.....	31
ANEXO 5: Aislamiento y selección de grupos funcionales de la rizosfera de la papa.....	32
ANEXO 6: Cuadros de resultados de la siembra por disolución	33
ANEXO 7: Preparación de medios de cultivo.....	35
ANEXO 8: Tinción de Gram.....	36
ANEXO 9: Análisis físico y químico de la muestra de suelo	37

INDICE DE CUADROS

Cuadros 1 Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.	4
Cuadros 2 Muestras de la rizosfera de la papa.....	14
Cuadros 3 Concentración de colonias de microbiota total de los dos métodos de siembra. ...	18
Cuadros 4 Concentración de colonias de los grupos funcionales mediante dos métodos de siembra.	19
Cuadros 5 Concentración de conidios de los grupos funcionales (R1).....	20
Cuadros 6 Concentración de conidios de los grupos funcionales (R2).....	21

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicación del laboratorio de la carrera de Agronomía.	12	
Figura 2 Ubicación del terreno.	13	
Figura 3 Disolución para hallar	Figura 4 Disolución para	15
Figura 5 Cámara de Neubauer.	17	
Figura 6 Concentración de colonias (UFC*gr) por método de siembra.....	18	
Figura 7 Concentración de colonias de los grupos funcionales (UFC*gr) por método de		

siembra.	19
Figura 8 Concentración de conidios de los grupos funcionales (R1).....	20
Figura 9 Concentración de conidios de los grupos funcionales (R2).....	21

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

“Detección de grupos funcionales (actinomicetos, bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos) asociados a la rizosfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en la parroquia de Belisario Quevedo sector Illuchi- Cotopaxi- Latacunga.2021.”

Lugar de ejecución:

CEASA –Cantón Latacunga – Provincia de Cotopaxi.

Zona: 3

Institución: Universidad Técnica de Cotopaxi

Unidad Académica que auspicia

Facultad De Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. (CAREN)

Carrera que auspicia: Ingeniería Agronómica.

Nombres de equipo de investigadores:

Tutor:

Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete Mg. Sc.

Coordinador del Proyecto

Arequipa Chuquilla Patricia Estefania

Teléfonos: 0962938580

Correo electrónico: patricia.arequipa9110@utc.edu.ec

Área de Conocimiento:

Agricultura - Agricultura, silvicultura y pesca - producción agropecuaria

Línea de investigación:

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local

Esta línea está enfocada en la generación de conocimiento para un mejor aprovechamiento de la biodiversidad local, basado en la caracterización agronómica, morfológica, genómica, física, bioquímica y usos ancestrales de los recursos naturales locales. Esta información será fundamental para establecer planes de manejo, de producción y de conservación del patrimonio natural.

Sub líneas de investigación de la carrera:

Caracterización de la biodiversidad

Línea de Vinculación

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

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.

La papa (*Solanum tuberosum* L) es el cuarto cultivo sembrado, en más de cien países siendo el alimento básico de los países desarrollados (Europa y Estados Unidos), quienes consumen 75 kg percapita anuales. La importancia de la papa radica en que sus tubérculos son parte de la dieta de millones de personas a nivel mundial, contiene 80% de agua y la materia seca constituida por carbohidratos, proteínas, celulosa, minerales, vitaminas A y C proporcionan una dieta balanceada, además son utilizadas en la industria para la producción de almidón, comidas rápidas, papas a la francesa, chips, hojuelas y puré.

Científico: La presente investigación permitió además de identificar las bacterias de la rizosfera de la papa, generar protocolos validados para estudios de diversidad de bacterias en otras especies de interés agropecuario.

Socioeconómico: En Cotopaxi, en los últimos años los productores agrarios utilizan fertilizantes químicos para incrementar las cosechas, los que elevan los costos de producción por lo que el proyecto ayudó a generar propuestas sostenibles a fin de lograr mejores ingresos por la venta de las cosechas y además reducir los gastos que ocasionan al agricultor por la compra de los fertilizantes sintéticos.

Ambiental: Al identificar la diversidad bacteriana, existen bacterias que pueden ser empleadas para reducir el uso de los fertilizantes sintéticos, con lo que se puede reducir la contaminación ambiental que genera los fertilizantes.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.

El presente trabajo de investigación actual, tiene dos tipos de beneficiarios.

Beneficiarios directos: Los beneficiarios del proyecto serán los agricultores que más se dedican al producir el cultivo de papa de la provincia (Toacaso, Salcedo, Sigchos, Zumbahua) estudiantes y el Proyecto de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Beneficiarios indirectos: Productores y consumidores de papa.

4. PROBLEMÁTICA DE LA INVESTIGACIÓN.

El creciente consumo de papa (*Solanum tuberosum*) en el mercado nacional e internacional, debido a su valor nutritivo, viene induciendo a los productores ejercer una fuerte presión sobre los suelos frágiles de nuestra región. Asimismo, se han empezado a cultivar áreas que tradicionalmente estaban destinadas al pastoreo; igualmente, los tiempos de descanso de los suelos se han reducido, dando lugar a la compactación, falta de rotación, pérdida de fauna del suelo; procesos que contribuyen al empobrecimiento de los suelos. Para superar estos problemas los agricultores acceden a los agroquímicos. Sin embargo, su uso excesivo puede provocar serios daños a la atmósfera, salud, el agua que consumimos y alteran directamente la comunidad microbiana del suelo. (Andrade L. , 2002)

Los microorganismos están implicados en los ciclos del C, N, P y S, e intervienen en procesos claves como la formación de la estructura del suelo, descomposición de la materia orgánica, eliminación de toxinas y dotan estabilidad a los cultivos y a la sostenibilidad de la producción de las plantas mediante la actividad, los que se hallan hospedadas en el suelo rizosférico y, en el interior de las raíces de las plantas como endófitos. En este proyecto, se aspira conocer, la diversidad bacteriana asociada a la rizosfera del cultivo de papa. (Andrade L. , 2002)

4.1 Formulación del problema.

En función a lo escrito se enunció el siguiente problema

¿Cuáles son las cantidades bacterianas que se hallan hospedadas en la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*) cultivadas en la provincia de Cotopaxi?

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

- Reconocer los grupos funcionales asociados a la rizosfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L), en la localidad de Belisario Quevedo.

5.2 Objetivos específicos

- Determinar poblaciones de microbiota total en el suelo del cultivo de papa.
- Determinar poblaciones de actinomicetos, hongos y bacterias fijadoras de nitrógeno asociadas a la rizosfera del cultivo de papa.
- Analizar las poblaciones de los grupos funcionales relacionados a la rizosfera del cultivo de papa.

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

Cuadros 1 Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.

OBEJTIVO 1	ACTIVIDAD	RESULTADO	MEDIO DE VERIFICACIÒN
Determinar poblaciones de microbiota total del suelo del cultivo de papa.	Delimitación del área de estudio.	<ul style="list-style-type: none"> • Obtención de muestras de suelo del cultivo de papa. • Agar nutritivo para microbiota total. 	<ul style="list-style-type: none"> • Registro y fichas de muestreo • Concentración de colonias en el medio
	Muestreo del suelo del cultivo de papa.		
	Preparación de medio de cultivo.		
OBEJTIVO 2	ACTIVIDAD	RESULTADO	MEDIO DE VERIFICACIÒN
Determinar poblaciones de actinomicetos, hongos y bacterias fijadoras de nitrógeno asociadas a la rizosfera de la papa	<ul style="list-style-type: none"> • Muestreo de la raíz del cultivo • Preparación de medios de cultivo. • Siembra en los medios de cultivo por dos métodos 	<ul style="list-style-type: none"> • Cultivos de microorganismos en medios de cultivos (Tryptone Soya agar, PDA) • Formación de colonias en los medios de cultivo 	<ul style="list-style-type: none"> • Registro de siembra • Concentración de colonias en los medios
OBEJTIVO 3	ACTIVIDAD	RESULTADO	MEDIO DE VERIFICACIÒN
Analizar las poblaciones de los grupos funcionales relacionados a la rizosfera del cultivo de papa	<ul style="list-style-type: none"> • Conteo de colonias y conidios de actinomicetos, hongos y bacterias del cultivo de papa. • Comparación de la incidencia de los tres grupos funcionales presentes en la raíz. 	<ul style="list-style-type: none"> • Datos arrojados por la cámara de Neubauer en conidios. • Incidencia de los tres grupos funcionales presentes en la raíz del cultivo. 	<ul style="list-style-type: none"> • Tablas de colonias. • Tablas de conidios • Barras comparativas de los tres grupos funcionales presentes en el cultivo.

Elaborado por: Arequipa Patricia 2020.

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1.1 Fundamentación teórica

7.1.2 Importancia de los microorganismos del suelo.

Según (Vélez Alexander, 1980) Los microorganismos juegan un papel crucial en la defensa de enfermedades y en la promoción del crecimiento de las plantas, así como en cambios en la vegetación, por lo que tienen un papel crítico en el mantenimiento de la calidad del suelo en los sistemas agrícolas. Las características microbianas del suelo pueden indicar cambios en la disponibilidad de recursos, estructura del suelo o contaminación y puede representar una clave importante para entender el impacto de factores ambientales y antropogénicos.

(Chotte, 2018) Menciona que los microorganismos son indispensables para el mantenimiento de su función ya que están implicados en los ciclos del C, N, P y S, e intervienen en procesos claves como la formación de la estructura del suelo, descomposición de la materia orgánica, eliminación de toxinas, etc. Por otro lado, participan en procesos ecológicos que permiten el funcionamiento de los ecosistemas, y biotecnológicos. Ellos son los principales responsables de la descomposición de la materia orgánica y del ciclo de los nutrientes (carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, etc.).

7.1.3 Microorganismos asociados a la rizosfera

Los microorganismos asociados a la rizosfera asemejan compuestos de bajo peso molecular liberados lentamente desde la raíz, de esta forma logran un gradiente de carbono (C) que va desde el tejido radical interno a la solución de suelo, contribuyendo al correcto flujo de sustancias desde el interior al exterior de las plantas. (C. P. , 2008)

7.1.4 Bacterias de la rizosfera

La mayoría de las bacterias del suelo son heterótrofas, organismos que no son capaces de fabricar compuestos orgánicos a partir de sustancias inorgánicas, pero si pueden obtener de compuestos orgánicos. En la rizosfera son capaces de ejercer un conjunto de interacciones producto de la competencia por nutrientes. las bacterias de la rizosfera estimulan la exudación de la raíz a través de la liberación de variadas sustancias producto de su metabolismo. (Alexander, Introduction to Soil Microbiology., 1980)

7.1.5 Bacterias Fijadoras de Nitrógeno

Este elemento, se halla en la atmósfera como gas, ocupa aproximadamente el 80%, es un reservorio no disponible para la mayoría de organismos, a excepción de algunos microorganismos como algas, bacterias y actinomicetos. Para que el nitrógeno pueda ser utilizado por los organismos debe encontrarse como ion amonio (NH_4^+) o nitrato (NO_3^-), cambio que sucede por medio de la Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN). (C. P. , 2008)

7.1.6 Actinomicetos

Son bacterias aeróbicas, filamentosas y parcialmente ácido resistentes; son heterótrofas, por lo cual pueden utilizar fuentes de carbono simple, complejo y compuestos moleculares orgánicos como: ácidos, azúcares, polisacáridos, lípidos, proteínas e hidrocarburos alifáticos. Utilizan como fuente de nitrógeno: amonio, nitratos, aminoácidos, peptonas y un gran número de proteínas. Estos microorganismos están ampliamente distribuidos en la mayoría de suelos secos y cálidos donde alcanzan grandes cantidades poblacionales. (C. C. , 2004)

Los actinomicetos representan un grupo general de microorganismos ampliamente distribuido en ecosistemas naturales y tienen gran importancia en la degradación de MO, además de ciertas propiedades fisiológicas que los hacen particulares. En un principio los actinomicetos se incluyeron entre los hongos porque su morfología y desarrollo presentaban gran similitud, dotados de un micelio verdadero; debido a esto se les denominó «hongos radiados» (C. C. , 2004)

7.1.7 Hongos de la rizosfera

Los hongos de la rizosfera de las raíces de las plantas movilizan nutrientes, azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, enzimas, etc. Estos son absorbidos pasivamente o integrados a la célula por transporte activo, también aumentan la capacidad de retener agua en sequía, fijan nutrientes esenciales, además protegen las raíces de fitopatógenos por antagonismo al emitir sustancias que los inhiben. (C. P. , 2008)

7.1.8 Género *Aspergillus* sp.

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Eurotiomycetes

Orden: Eurotiales

Familia: Trichocomaceae

Género: Aspergillus

Se caracterizan por tener micelio vegetativo compuesto de hifas septadas, ramificadas incoloras, estructura conidial desarrollada como pedicelos y cabezuelas de origen en las células hifales especializadas, paredes gruesas. (CALVO P., 2008)

7.1.9 Género *Penicillium* sp.

Reino: Fungí

División: Ascomycota

Clase: Euascomycetes

Orden: Eurotiales

Familia: Trichomaceae

Género: *Penicillium*

El *Penicillium* produce varios metabolitos secundarios, entre ellos ácido ciclopiazónico, ácido penicílico, los cuales son originados por el hongo para afianzarse en su ambiente natural inhibiendo a otros organismos que compiten por el sustrato. (CALVO P., 2008)

7.1.10 Género *Trichoderma* sp.

Reino: Fungí

División: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Trichoderma*

La mayoría de este género no tienen un periodo sexual, simplemente producen esporas asexuales; sin embargo, a algunos se les conoce un periodo sexual. Su taxonomía se ha basado tradicionalmente en las diferencias morfológicas, inicialmente en los órganos de esporulación asexual. (CALVO P., 2008)

8. Origen de la papa

La papa (*Solanum tuberosum*), es una planta originaria de América, por lo que es posible encontrarla a través de gran parte del territorio donde la mayoría de los campesinos han tenido algún contacto con ella. Aunque la historia de la papa puede trazarse en el centro de origen del lago Titicaca (Bolivia – Perú) y en el norte del Perú diez siglos atrás. La adaptabilidad de la papa a diversas condiciones de temperatura fotoperiodismo, suelos entre otros y de producir desde los 80 o 90 días en adelante, han hecho que se haya estudiado, en especial fuera de América y que hoy aparezca junto al trigo y maíz con muchos antecedentes bibliográficos. (Andrade L. , 2002)

La papa ha conquistado los lugares más remotos del planeta y si bien es cierto que no en todas partes del mundo se le somete a intensa explotación y cultivo, por lo menos ya es aceptada en Asia, África, Oceanía y otros lugares. (Andrade L. , 2002)

8.1.1 Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Solanales

Familia: Solanáceae

Género: Solanum

Especie: Solanum tuberosum L.

8.1.2 Importancia de la papa

Según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO) la producción mundial de papa alcanzó 311 millones de toneladas en el 2003. Esto se refleja en más de dos mil millones de consumidores de los países en desarrollo. Se estima que América Latina produce más de 12 millones de toneladas métricas anuales de papa donde las exportaciones e importaciones regionales de papa representa más de 9% de su producción interna, con tendencia creciente. (Andrade L. , 2002)

8.1.3 Principales enfermedades causadas por Omicetos y hongos

Una de las enfermedades más graves que afectan al cultivo de papa es el tizón tardío (*Phytophthora infestans*). Inicia con la aparición de manchas acuosas circulares e irregulares en el follaje que en pocos días se vuelven necróticas de color castaño cuando están secas o negras cuando están húmedas, bajo condiciones de mucha humedad, las manchas se extienden rápidamente y forman zonas pardas con bordes irregulares en el borde de la lesión y en el envés de la hoja se forma una zona blanquecina constituida por hifas. (Alexander, Introduction to Soil Microbiology., 1998)

Otra de las enfermedades importantes es el tizón temprano (*Alternaria solani*), la cual está ampliamente difundida y es una de las enfermedades foliares más importante en el cultivo de papa en zonas con condiciones climáticas favorables tales como la alta humedad relativa y temperaturas entre 18 y 25°C. Por lo general la enfermedad aparece en forma de manchas foliares irregulares constituidas por anillos concéntricos, las manchas tienen un color que varía de marrón a negro y pueden ser pequeñas profundas y con bordes bien definidos. (Alexander, Introduction to Soil Microbiology., 1980)

8.1.4 Enfermedades de origen bacteriano

La Pierna negra causada por *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* y *Erwinia carotovora* var. *carotovora*, aunque recientemente *E. chrysanthemi* ha sido aislada de plantas de papa con síntomas de pierna negra. La pierna negra puede aparecer en cualquier estado de desarrollo de la planta durante la cosecha y el almacenamiento, la bacteria puede penetrar al interior del tubérculo a través de las lenticelas, la punta del estolón de la planta madre infectada, las heridas producidas al momento de la cosecha, constituyendo un problema durante el almacenamiento (pudrición blanda). (Andrade L. , 2002)

8.1.5 Marchitez bacteriana.

Esta enfermedad es causada por *Ralstonia solanacearum*, que es un bacilo Gram negativo, cuyo tamaño aproximado es de 0,5 X 1,5 µm por lo que no se puede observar a simple vista, presenta un único flagelo polar que le da movilidad, aeróbica estricta, la temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre 28 y 30°C, es una bacteria de crecimiento rápido. (Andrade L. , 2002)

8.1.6 Medios de cultivo

Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos (Alexander, Introduction to Soil Microbiology., 1998)

8.1.7 Tipos de medios de cultivo

Medios generales: Son aquellos que facilitan el crecimiento de una gran variedad de microorganismos.

Medios de enriquecimiento: Son los que permiten el crecimiento de un microorganismo sin llegar a inhibir totalmente el crecimiento de los demás.

Medios selectivos: Son aquellos que benefician el desarrollo de microorganismos determinados, inhibiendo el desarrollo de los demás.

Medios diferenciales: Son aquellos en los se coloca propiedades que un determinado tipo de microorganismos posee.

8.1.8 Preparación de medios de cultivo

En la actualidad, la mayoría de los medios de cultivo se encuentran comercializados; normalmente bajo la forma de liofilizados a los que es preciso rehidratar. Las sustancias termolábiles, se esterilizan por filtración y se añaden al resto de los componentes después de que estos hayan sido previamente esterilizados en la autoclave y enfriados a temperatura ambiente o a 40-50 C si se trata de medios con agar. (Vélez Alexander, 1980)

8.1.9 Evaluación de grupos funcionales de microorganismos

Con el fin de tener una estimación de las poblaciones cultivables de interés en el suelo en estudio, se realizó series de dilución y siembra en placa usando medios de cultivo selectivos para cada grupo funcional. Para el aislamiento y recuento de hongos se utilizó el medio de cultivo potato dextrose agar; para Microbiota total se empleó el medio de cultivo agar nutritivo; para actinomicetos se utilizó el medio de cultivo Tryptone soya agar. (Vélez Alexander, 1980)

Para el aislamiento y recuento de las bacterias fijadoras de nitrógeno que utilizan glucosa como fuente de carbono se utilizó el medio de cultivo PDA. Se realizaron 3 réplicas de cada uno de

los recuentos y las cajas de petri se incubaron a 28°C durante 3 a 7 días, según el tipo de microorganismo. Luego se procedió a realizar el recuento de los microorganismos. (Chotte, 2018)

Para las fijadoras de nitrógeno, se consideran como positivas todas las colonias que crecieron en el medio selectivo para este tipo de microorganismos, ya que este no cuenta con una fuente de nitrógeno y se asume que si un microorganismo crece en él es porque puede tomar el nitrógeno que requiere para su metabolismo y crecimiento a partir del nitrógeno atmosférico por medio de la fijación. (Vanderzant, 2007)

9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

9.1. Metodología y Técnicas.

9.1.1. Materiales de campo

- pala.
- Fundas con cierre
- Balanza digital
- Bisturí

9.1.2. Materiales y Equipos de laboratorio

- Mandil
- Guantes quirúrgicos
- Mortero de porcelana
- Balanza analítica científica
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Incubadora / Cámara de crecimiento
- Microscopio
- Centrífuga
- Pera de succión
- Pipetas
- Frascos de vidrio 250 ml
- Cajas Petri
- Tubos de ensayo

9.1.3. Reactivos

- Agua destilada
- Alcohol
- Medios de cultivo

9.2. Ubicación del área de estudio

Este proyecto de investigación, se realizó en el laboratorio de microbiología vegetal del Campus Experimental Salache de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Barrio: Salache

Parroquia: Eloy Alfaro

Cantón: Latacunga

Condiciones climáticas

Longitud: 78° 37' 19" oeste

Latitud: 0° 59' 47" sur

Precipitación: 300 – 350 mm Anuales.

Humedad: Posee una humedad del 40 %.

Luminosidad: Tiene de 8 – 9 horas diarias de luminosidad.

Temperatura: Fluctúa entre los 14–20°C

Altitud: 2757 m.s.n.m.

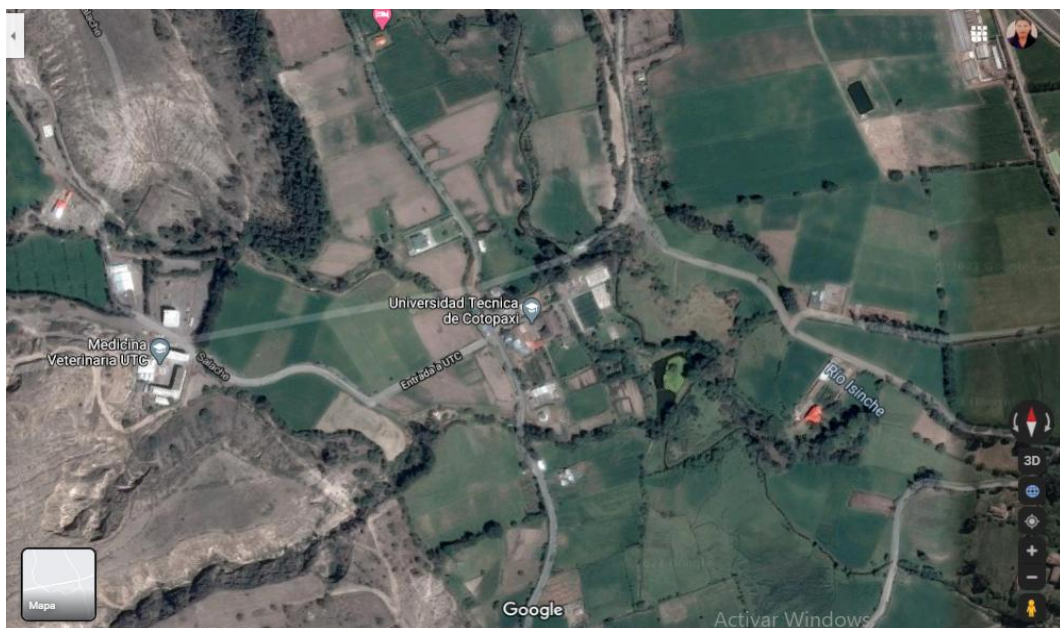


Figura 1 Ubicación del laboratorio de la carrera de Agronomía.

9.3. Ubicación de la toma de muestras

La toma de muestras tuvo lugar en una pequeña parcela de producción de papa de la propiedad del señor German Alomoto ubicada en el sector Chavéz pamba, parroquia de Belisario Quevedo.

Barrio: Illuchi

Parroquia: Belisario Quevedo

Cantón: Latacunga

Condiciones climáticas

Temperatura: 12.4 a 13.8 °C

Altitud: 2680 – 3960 msnm

Pendiente: 5%

Precipitación: 450 a 700 mm

Longitud: 780 35, 49, oeste

Latitud: 00 56, 19

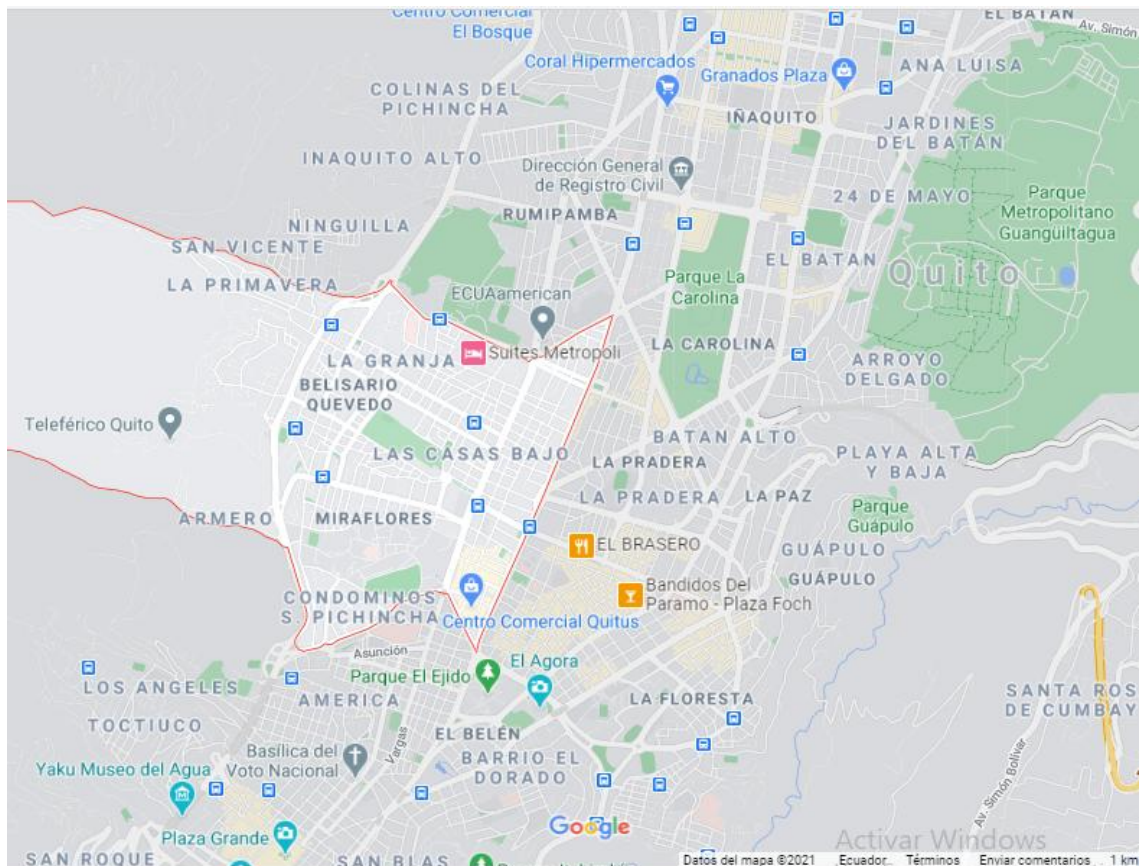


Figura 2 Ubicación del terreno.

9.4. Toma de muestras

Para la toma de muestra se utilizó el protocolo recomendado por el manual del laboratorio de Análisis químico de suelos y foliares. Se tomaron muestras de la rizosfera (raíces y suelo que rodea a la planta) juntando aproximadamente 1 kg de muestras, las cuales se colocaron en bolsas Ziploc rotuladas y posteriormente se trasladaron al Laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi Facultad Caren para su procesamiento.

Cuadros 2 Muestras de la rizosfera de la papa

Muestras de la Parcela 1	Coordenadas
P1m1	X: 972011 Y: 78585284 2810m
P1m2	X: 971993 Y:78585366 2809m
P1m3	X: 972014 Y:78585369 2809m

Muestras de la Parcela 2	Coordenadas
P2m1	X: 972011 Y: 78585284 2810m
P2m2	X: 971956 Y:78585296 2810m
P2m3	X: 971934 Y:78585296 2812m

Muestras de la Parcela 3	Coordenadas
P3m1	X: 971932 Y: 78585247 2812m
P3m2	X: 971920 Y:78585199 2813m
P3m3	X: 971953 Y:78585118 2813m

9.4.1. Aislamiento de actinomicetos de suelo rizosférico.

Se pesaron 50 g de suelo rizosférico de cada muestra seca, se colocaron dentro de un envase estéril con 400 ml de Agua destilada. Se dejó en incubación durante 30 minutos, y posteriormente realizar diluciones seriadas hasta 10^{-4} . Luego, 20ml de cada dilución se sembraron, por duplicado, en placas de Tryptone soya agar. Las placas fueron incubadas a 28 °C hasta un máximo de 15 días. (Calvo Vélez, 2008)

9.4.2. Aislamiento de hongos.

Se pesaron 55 g de suelo rizosférico de cada muestra seca, Se colocaron dentro de un envase estéril con 250 ml de Agua destilada. Se dejó en incubación durante 30 minutos, y posteriormente realizar diluciones seriadas hasta llegar a 10^{-4} . Luego, 20ml de cada dilución se sembraron, por duplicado, en placas de Potato Dextrose agar. Las placas fueron incubadas a 28 °C hasta un máximo de 15 días. (Calvo V. P., 2008)

9.4.3. Aislamiento de Fijadoras de nitrógeno.

Se pesaron 55 g de suelo rizosférico de cada muestra seca, los cuales se colocaron dentro de un envase estéril con 250 ml de Agua destilada. El envase se dejó en incubación durante 30 minutos, para posteriormente realizar diluciones seriadas hasta llegar a 10^{-4} . Luego, 20ml de cada dilución se sembraron, por duplicado, en placas de Potato Dextrose agar con pH 3,5. Las placas fueron incubadas a 28 °C hasta un máximo de 15 días. (CALVO P., 2008)

9.4.4. Aislamiento de la Microbiota total.

Se pesaron 55 g de suelo rizosférico de cada muestra seca, se colocaron dentro de un envase estéril con 400 ml de Agua destilada. Se dejó en incubación durante 30 minutos, para realizar diluciones seriadas hasta 10^{-4} . Luego, 20ml de cada dilución se sembraron, por triplicado, en placas de Difco Nutrient agar con pH 6,8. Las placas fueron incubadas a 28 °C hasta un máximo de 15 días. (Ramírez R, 2006)



Figura 3 Disolución para hallar microbiota total



Figura 4 Disolución hallar microorganismos.

9.5. DISEÑO METODOLÓGICO

9.5.1. Tipo de Investigación

- **Descriptiva.**

Esta investigación es de tipo descriptiva porque consistió en describir y caracterizar los grupos funcionales encontrados en la rizosfera del cultivo de papa.

- **Cuantitativa**

Esta técnica sirvió para contabilizar los microorganismos en cajas Petri.

- **Cualitativa**

Este tipo de técnica consistió en describir las características macro y microscópicas de bacterias y mohos.

- **Comparativa**

Mediante esta técnica se realizó comparaciones a través los resultados obtenidos por medio de los cultivos realizados en el laboratorio con los resultados dados de un análisis físico, químico del Iniap.

9.6. METODOLOGÍA MÉTODOS

- **Bibliográfico**

La investigación se realizó con la ayuda de material bibliográfico y documental que sirvió de base para el contexto de marco teórico. Las fuentes como libros, revistas, tesis de grado, artículos científicos entre otras, fortalecieron el conocimiento para mejorar el proceso del trabajo.

- **Descriptivo**

Se utilizó el método descriptivo con el cual se describieron las características de los microorganismos.

- **De Laboratorio**

La investigación se centró en la fase de laboratorio ya que permitió utilizar herramientas que ayudaron a identificar los grupos funcionales.

9.7. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

- **Observación**

Permitió la relación directa con el objeto de estudio el cual fue de mucha importancia, ya que

así se pudo identificar los grupos funcionales que se encuentran en la rizosfera del cultivo de papa.

- **Registro de datos**

Esta técnica nos permitió recopilar datos válidos, fiables para realizar una descripción de los microorganismos que se encuentran en el cultivo de papa.

9.8. Recuento de hongos, Fijadoras de nitrógeno, Actinomicetos y Microbiota Total en cámara de Neubauer

- Se agregó una gota de muestra líquida (caldo nutritivo) de cada uno de los tratamientos sobre todo el recuadro de conteo.
 - Se colocó el cubre objetos, evitando formar burbujas de aire.
 - Se observó con un microscopio óptico, usando el objetivo 40X.
 - Para una mayor homogenización del análisis, se contó los 4 cuadrantes (64 cuadros), continuo al proceso, se calculó un promedio de los valores obtenidos en los 4 cuadrantes.
- Siguiendo la siguiente fórmula: Número de esporas contadas por el factor de dilución, se obtiene el número de partículas por unidad de volumen del líquido.

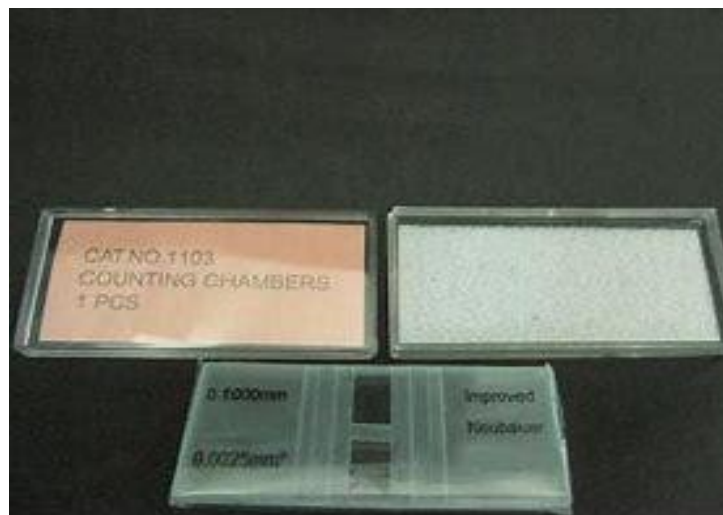


Figura 5 Cámara de Neubauer.

10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Cuadros 3 Concentración de colonias de microbiota total de los dos métodos de siembra.

CONCENTRACIÓN DE COLONIAS DE MICROBIOTA TOTAL MEDIANTE DOS TÉCNICAS DE SIEMBRA		
UFC*gr	DISOLUCIÓN	3,88
	RAÍZ	4,22

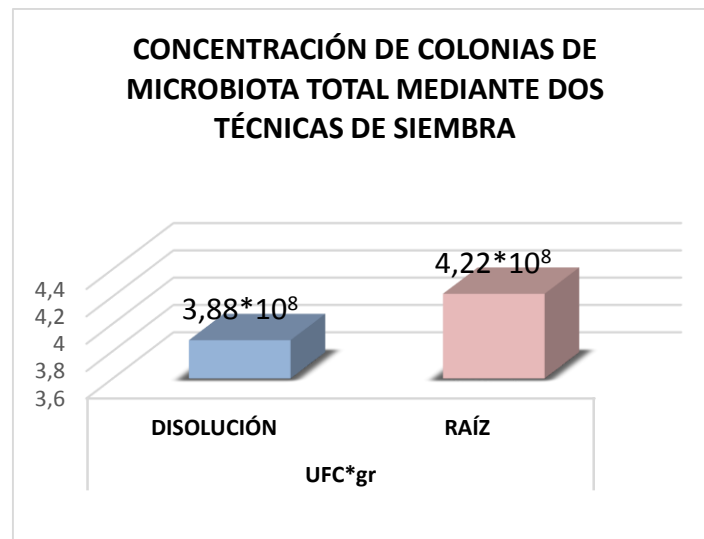


Figura 6 Concentración de colonias (UFC*gr) por método de siembra.

Como se puede observar en la (figura 5), tenemos $3,88 \cdot 10^8$ UFC*gr-1 en el primer método de siembra y en la segunda repetición $4,22 \cdot 10^8$ lo que nos permite determinar que existe gran cantidad de microorganismos asociados a la rizosfera de la papa en cultivo tradicional.

Esto nos permite concluir que a pesar de tener un suelo pobre en materia orgánica existe una buena presencia de microbiota total estos datos corroboran con lo realizado por (Villarreal, 2000) que nos dice que el porcentaje más alto de microorganismos se localiza en suelos pobres de materia orgánica siendo, la mayoría, bacterias que se agrupan como aerobias, anaerobias y anaerobias facultativas.

10.1 Resultados de colonias de los grupos funcionales obtenidos por dos métodos de siembra

Cuadros 4 Concentración de colonias de los grupos funcionales mediante dos métodos de siembra.

RESULTADOS DE COLONIAS DE LOS GRUPOS FUNCIONALES OBTENIDOS POR DOS MÉTODOS DE SIEMBRA			
		DISOLUCIÓN	RAÍZ
UFC*gr	ACTINOMICETOS	2,55	5,11
	FIJADORAS DE NITROGENO	10,22	7,22
	HONGOS	2,44	2,33

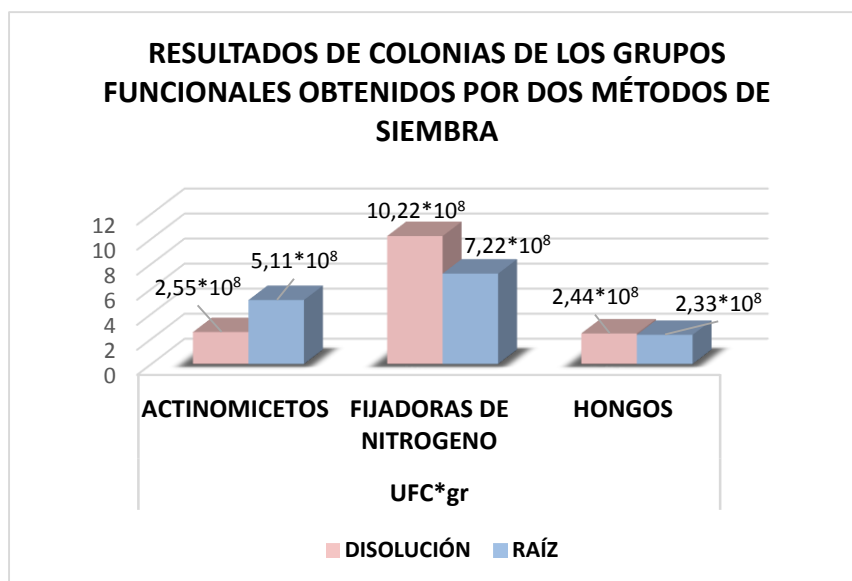


Figura 7 Concentración de colonias de los grupos funcionales (UFC*gr) por método de siembra.

Como se puede observar en la (figura 6) se evidencia un alto contenido de bacterias fijadoras de nitrógeno y actinomicetos por gramos de suelo, mediante los dos métodos de siembra.

Según (Tate, 2000) nos dice que, los actinomicetos se encuentran en casi todos los tipos de suelos y bajo condiciones extremas disminuyen levemente la concentración de la población. El tamaño de la comunidad depende del tipo del suelo, sin embargo, particularmente de algunas de las características físicas, del contenido de materia orgánica y del pH se tuvo como resultado que existe una cantidad alta de actinomicetos.

Teniendo en cuenta la importancia agronómica de las bacterias fijadoras de nitrógeno y el alto contenido en este tipo de suelo corroboramos el estudio que realizó (Nordeste, 2006) en donde se reportó que los suelos con rangos de pH 6.25-7.44 son óptimos para el crecimiento de estas bacterias en los cultivos de papa.

10.2 Resultados de colonias de los grupos funcionales obtenidos por dos métodos de siembra

Cuadros 5 Concentración de conidios de los grupos funcionales (R1)

CONCENTRACIÓN DE CONIDIOS DE LOS GRUPOS FUNCIONALES (R1)	
ACTINOMICETOS	1,43
FIJADORAS DE NITROGENO	9,76
HONGOS	6,2
MICROBIOTA TOTAL	6,87

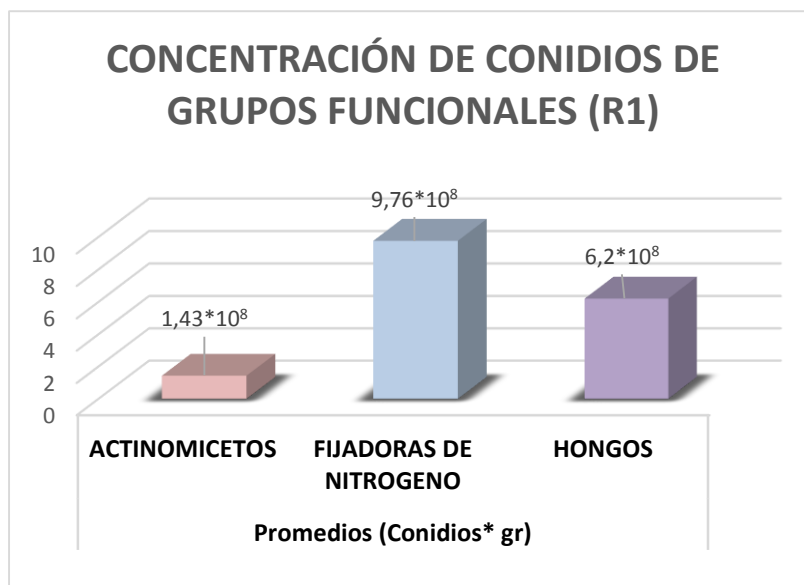


Figura 8 Concentración de conidios de los grupos funcionales (R1)

Como se puede observar en la (figura 7) tenemos alta concentración de bacterias fijadoras de nitrógeno provenientes de la rizosfera de *S. tuberosum*, sin embargo, para estar seguros de que se trata de bacterias fijadoras de nitrógeno se procedió a realizar la técnica de Tinción de gram teniendo como resultado bacterias filamentosas Gram positivas. Estas bacterias facilitan el crecimiento vegetal directamente por la producción de moléculas tales como las fitohormonas como citoquininas y auxinas.

Al realizar aislamientos de siembra por disolución en placas con medio de cultivo. se observó que existe un contenido considerable de $6,2 \cdot 10^8$ de bacterias. Según (Vélez Alexander, 1980) nos dice que las mayores poblaciones de bacterias se encuentran en suelos con pH neutro.

10.3 Resultados de colonias de los grupos funcionales obtenidos por dos métodos de siembra

Cuadros 6 Concentración de conidios de los grupos funcionales (R2)

CONCENTRACIÓN DE CONIDIOS DE LOS GRUPOS FUNCIONALES (R2)		
Promedios (Conidios* gr)	ACTINOMICETOS	13,22
	FIJADORAS DE NITROGENO	9,76
	HONGOS	16,28

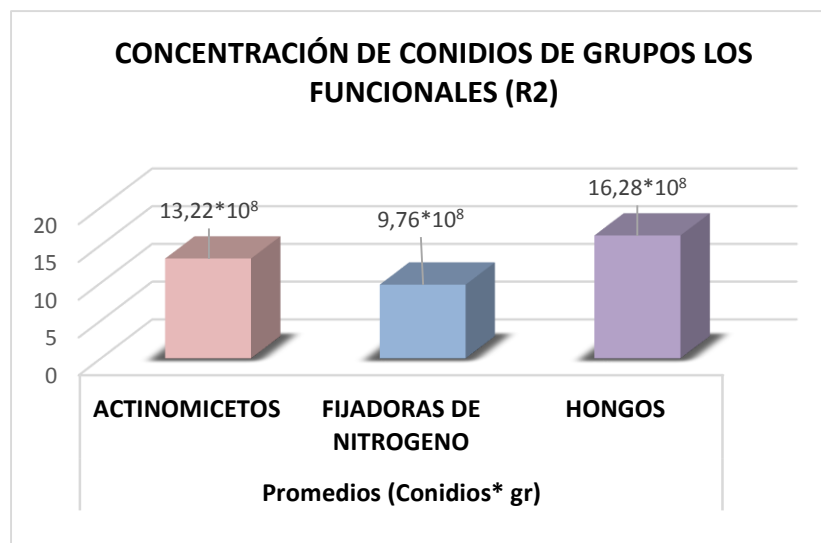


Figura 9 Concentración de conidios de los grupos funcionales (R2)

En la (figura 8) se determina que, mediante el método de siembra por raíz, mostro mayor presencia de Hongos y actinomicetos. Sin embargo, la presencia de hongos benéficos en la rizosfera del cultivo de papa son indicios de que es posible su empleo para la protección del cultivo en condiciones de campo.

Al detectar el crecimiento de hongos provenientes de la rizosfera del cultivo de papa, es importante tener en cuenta que cada sitio tiene un tipo de suelo con características fisicoquímicas diferentes, lo cual influye en la cantidad y diversidad de hongos muestras de suelo colectados. Según (CALVO P., 2008) considera que el pH del suelo y su afectación en la disponibilidad de nutrientes, así como presencia de exudados vegetales y las prácticas agrícolas, son factores determinantes para el crecimiento y diversidad de microorganismos.

11. CONCLUSIONES

- ✓ Los dos métodos de siembra permitieron el crecimiento de microorganismos; sin embargo, el método de siembra directa de raíz favoreció el crecimiento de hongos, los cuales podrían tener potencial como microorganismos lipolíticos. De igual forma se observó mayor diversidad en la expresión de hongos en comparación con los actinomicetos; donde las diferencias en el crecimiento de microorganismos se debieron principalmente a la muestra de suelo.
- ✓ La mayor población de bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos aisladas de la rizosfera de la papa fue mayor número que la de los actinomicetos.
- ✓ La diversidad del conjunto de los grupos funcionales de microorganismos (actinomicetos, bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos) no es afectada significativamente por el manejo de agroquímicos en el cultivo.
- ✓ Los actinomicetos de la papa tienen la capacidad de sintetizar compuestos bioactivos, los cuales presentan actividad antagonista contra diversas bacterias y hongos fitopatógenos sin ocasionar efectos tóxicos.
- ✓ Los microorganismos que colonizan la rizosfera pueden afectar el crecimiento de la planta positiva o negativamente. Las bacterias pueden estimular el crecimiento de las plantas, impactar la biología de la raíz, la nutrición y ayudar a la sostenibilidad a largo plazo.

12. RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda seguir investigando los grupos funcionales para el mejoramiento de los cultivos de importancia económica y social. En particular del cultivo de papa ya que existen diversos grupos funcionales que ofrecen grandes expectativas para ser aprovechadas en el manejo agronómico de los cultivos.
- ✓ Los resultados obtenidos en la investigación apuntan a que en el sector de Belisario Quevedo se dispone de máxima concentración de fijadoras de nitrógeno, por lo que se debería profundizar el estudio de los distintos mecanismos de acción, optimizando su utilidad en el campo agrícola.
- ✓ Para futuras investigaciones se recomienda analizar todos los grupos funcionales, permitiendo identificar cuál es el grupo que nos ayuda como controlador en el cultivo de papa.
- ✓ Mediante pruebas moleculares y microscopía electrónica, hacer el reconocimiento de especies de bacterias fijadoras de nitrógeno, hongos y actinomicetos nativos aislados de la rizosfera de papa.
- ✓ De contar con un mejor financiamiento ensayar diferentes métodos para la identificación de microorganismos asociados a la rizosfera, incluyendo métodos de extracción de ADN total directo de las muestras sin la necesidad de aislar y cultivar los microorganismos
- ✓ Se recomienda investigar a profundidad la identidad de estos microorganismos desde un punto de vista molecular y a su vez acerca de sus capacidades de crecimiento vegetal.

13. BIBLIOGRAFÍA

- ✚ al., C. e. (2017). El aislamiento, la identificación, caracterización, y la detección de bacterias rizosféricas para la actividad herbicida . . DOI 10.1007 / s13165-017-0184-8 18.
- ✚ Alexander, M. (1980). Introduction to Soil Microbiology. New York: Second Edition. John Wiley and Sons.
- ✚ Alexander, M. (1998). Introduction to Soil Microbiology. New York: Second Edition. John Wiley and Sons.
- ✚ Ambiente, C. N. (2001). Estrategia Nacional sobre Diversidad Biológica. . Lima-Perú: VICEVERSA.
- ✚ Ambiente, C. N. (2001). Estrategia Nacional sobre Diversidad Biológica.. Lima-Perú: VICEVERSA.
- ✚ Andrade, L. (2002). La papa en el Ecuador In: El cultivo de papa. . Quito: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Centro Internacional de la Papa (CIP). 1 ed.21 p.
- ✚ Andrade, L. (2002). La papa en el Ecuador In: El cultivo de papa. . Quito: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Centro Internacional de la Papa (CIP). 1 ed., 21 p.
- ✚ C., B. (2018). Guía para prácticas de laboratorio microbiología. Ingeniería en biotecnología, ibt502-Microbiología.
- ✚ C., C. (2004). Efectividad de actinomicetos aislados de la rizósfera de papa sobre *Rhizoctonia solani* Kühn in vitro. . Mexico: Revista Mexicana de Fitopatología, 22(2): 203-207.
- ✚ C., P. (2008). Estudio de las poblaciones microbianas de la rizósfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en zonas altoandinas. . Ecología Aplicada, 7(1), 2.
- ✚ CALVO P., L. R. (2008). Estudio de las poblaciones microbianas . . Ecología Aplicada 7(1,2): 141-148. .
- ✚ Calvo V. P., R. M. (2008). Estudios de las poblaciones microbianas de la rizósfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en zonas altoandinas. Ecología Aplicada 7(1,2): 141-148.
- ✚ Calvo Vélez, P. R. (2008). estudio de las poblaciones microbianas de la rizósfera del cultivo de papa (*solanum tuberosum*) en zonas altoandinas. . Ecología Aplicada, 7(1–2), 141. .
- ✚ Chaudhry, G. &. ((1988).). Isolation and characterization of a new plasmid from a *Flavobacterium* sp. . which carries the genes for degradation of 2,4- dichlorophenoxyacetate. J Bacteriol. . 170(9):3897– 902. 19.

- ✚ Chotte, J.-L. (2018). Importance of Microorganisms for Soil Aggregation. *Microorganisms in Soils. Roles in Genesis and Functions*, 107–119. doi:10.1007/3-540-26609-7_5.
- ✚ CIP. (1985). Principales Enfermedades nematodos insectos y ácaros de la papa. . Centro Internacional de la papa. 29.
- ✚ CRAWFORD DL, L. J. (1993). Aislamiento y caracterización de antagonistas de actinomicetos de un patógeno fúngico de la raíz. . *Appl Environ Microbiol* 59: 3899–3905.
- ✚ FRENCH, E. R. (1994). Control integrado de marchites bacteriana de la papa. . Circular del centro Internacional de la papa(CIP).
- ✚ Jiménez, D. M. (2011). Jiménez, D. M. (2011). Characterization of free nitrogen fixing bacteria of the genus *Azotobacter* in organic vegetable-grown colombian soils. . *Brazilian: Journal of Microbiology*, 42, 846-858.
- ✚ KELMAN, A. (1954). The relationship of pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. . Mexico.
- ✚ Nordeste, U. N. (2006). Estudio cuantitativo de bacterias . . Obtenido de *Microbiología General- Carrera Farmacia* . .
- ✚ Ramírez R, L. B. (2006). *Manual de Prácticas de Microbiología General*. . México: Universidad Nacional Autónoma de México UNAM, Facultad de Química 5ª edición.
- ✚ S. E., Á. S. (1980). Poblaciones microbianas del suelo en la conversión a labranza de conservación. . *La edafología y sus perspectivas al siglo XXI*. R. 429-43 pp.
- ✚ STEAD, L. Y. (1987). *Métodos para el Diagnóstico de Enfermedades Bacterianas en plantas*. . . Vol. 2.
- ✚ Tate, R. 2. (2000). *Soil Microbiology*. . New York: Wiley, pp. 47-56.
- ✚ Vanderzant, C. S. (2007). *Agar Papa Dextrosa*. Recuperado el 01 de febrero de 2019. . https://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7149_sp_pi.pdf.
- ✚ Vélez Alexander, M. (1980). *Introduction to Soil Microbiology*. . New York: Second Edition. John Wiley and Sons.
- ✚ Villarreal, A. A. (2000). Poblaciones microbianas del suelo en la conversión a labranza de conservación. . *La edafología y sus perspectivas al siglo XXI*. R. 429-43 pp.

ANEXOS

ANEXO 1: Aval de traducción



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

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 del proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por la señorita estudiante egresada de la **CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES: AREQUIPA CHUQUILLA PATRICIA ESTEFANIA**, cuyo título versa **“DETECCIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES (ACTINOMICETOS, BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO Y HONGOS) ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DEL CULTIVO DE PAPA (SOLANUM TUBEROSUM) EN LA PARROQUIA DE BELISARIO QUEVEDO SECTOR ILLUCHI-COTOPAXI- LATACUNGA. 2021,”** 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 a la peticionaria hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimare conveniente.

Latacunga, marzo del 2021

Atentamente,

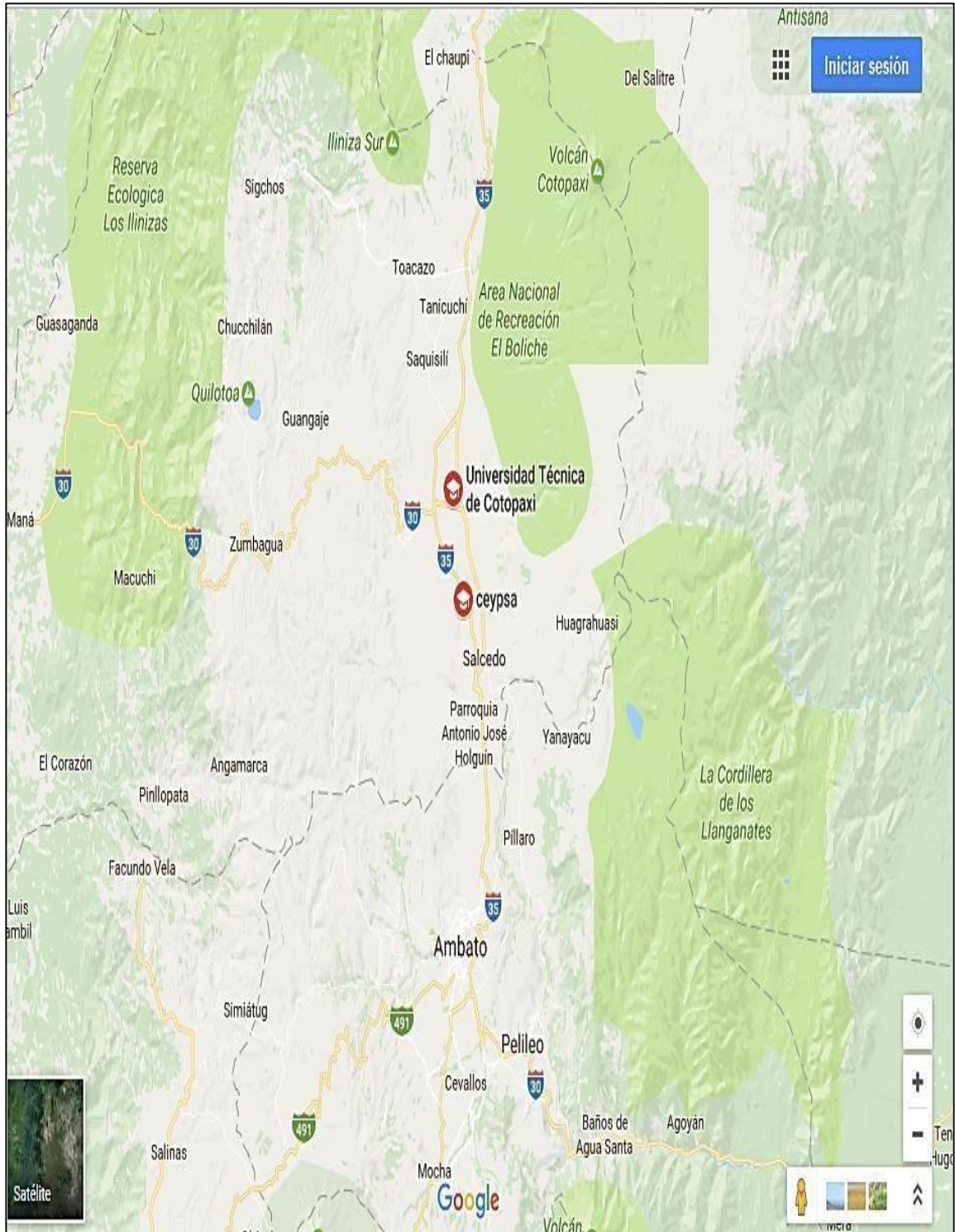
Mg. Mayra Clemencia Noroña Heredia.
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 0501955470

1803027935
VICTOR
HUGO
ROMERO
GARCIA



Firmado
digitalmente por
1803027935
VICTOR HUGO
ROMERO GARCIA
Fecha: 2021.03.16
09:37:33 -05'00'

ANEXO 2: Ubicación geográfica de la Universidad Técnica de Cotopaxi extensión Salache.



Fuente: Google maps

ANEXO 3: Hoja de vida del Tutor Ing. Paolo Chasi**1.- DATOS PERSONALES****NOMBRES Y APELLIDOS:** Wilman Paolo Chasi Vizuite**CEDULA DE CIUDADANÍA:** 050240972-5**FECHA DE NACIMIENTO:** 05 de agosto de 1979**DOMICILIO:** Parroquia Guaytacama (Barrio Centro, Calle Sucre)**NUMEROS TELÉFONICOS:** Convencional 032690063 Celular: 0984203033**E-MAIL:** paolochv@yahoo.com.mx / wilman.chasi@utc.edu.ec**LUGAR DE TRABAJO:** Universidad Técnica de Cotopaxi (Campus Salache)**DIRECCION DE TRABAJO:** Cantón Latacunga, Parroquia Eloy Alfaro, Sector Salache**TELEFONO DEL TRABAJO:** 032266164**E-MAIL DEL TRABAJO:** caren@utc.edu.ec**2.- ESTUDIOS REALIZADOS****INSTRUCCIÓN PRIMARIA:** Escuela “Simón Bolívar”**INSTRUCCIÓN SECUNDARIA:** Instituto Tecnológico “Vicente León”.

Latacunga / Cotopaxi.

TITULO: Bachiller en Ciencias Físico Matemáticas**INSTRUCCIÓN SUPERIOR:** Universidad Técnica Cotopaxi.

Latacunga / Cotopaxi.

TITULO TERCER NIVEL: Ingeniero Agrónomo**INSTRUCCIÓN SUPERIOR:** Universidad de la Fuerzas Armadas ESPE.

Sangolquí / Pichincha

TITULO CUARTO NIVEL: Magister en Agricultura Sostenible


ANEXO 4: Hoja de vida del Alumno

**AREQUIPA
CHUQUILLA
PATRICIA
ESTEFANIA**

PERFIL

OBTENER CONOCIMIENTOS PARA EL DESARROLLO DE UNA MEJOR IDEA DE PRODUCCIÓN Y DESARROLLO DE UNA AGRICULTURA SOSTENIBLE, DENTRO DEL CAMPO PROFESIONAL.

COMPARTIR E INTERCAMBIAR IDEAS PARA UN FIN SOCIOPRODUCTIVO.

 0962938580
GUAYTACAMA - 1994

 GUAYTACAMA– centro

 patriciaarequipa0@gmail.com

FORMACIÓN SUPERIOR

UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI

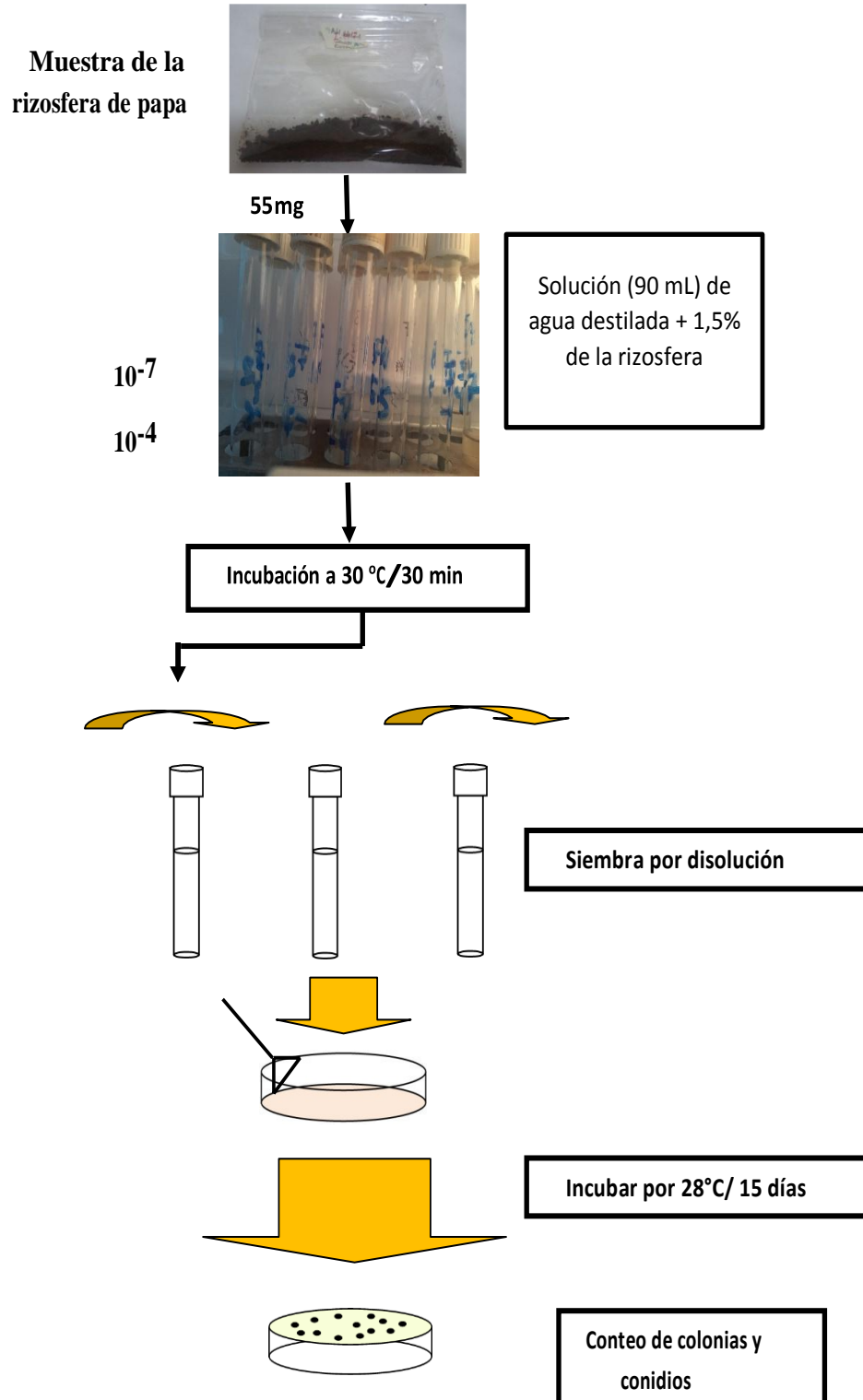
FORMACIÓN SECUNDARIA

COLEGIO NACIONAL “PRIMERO DE ABRIL”

Bachiller Químico Biólogo

FORMACIÓN PRIMARIA

COLEGIO MILITAR N°9 “BRIGADA PATRIA”

ANEXO 4: Aislamiento y selección de grupos funcionales de la rizosfera de la papa

ANEXO 5: Aislamiento y selección de grupos funcionales de la rizosfera de la papa

Agar Papa Dextrosa (APD) – mg/L (Beever y Bollard, 1970)

- Infusión de papa 4,0
- D-glucosa 20,0
- Agar 15,0
- Agua destilada 1000,0 ml
- pH 5,5

Para el aislamiento, cultivo y mantenimiento de hongos.

Medio agar nutritivo (microbiota total)

- 0,5% de peptona;
- 0,3% de extracto de carne/extracto de levadura;
- 1,5% de agar;
- 0,5% de cloruro de sodio;
- agua destilada

Este medio viene preparado y solo se agregan 50 gr a 400ml de agua destilada, se ajusta el pH y luego se autoclave a 120 °C

Caseína agar (actinomicetos)

- Calcio 0,019%
- Magnesio 0,0079%
- Potasio 1,30%
- Sodio 2,10%

Trypticase Soy Agar (agar de soja Trypticase)

Es un medio de uso general que favorece el crecimiento de microorganismos exigentes y no exigentes.

- Digerido pancreático de caseína15,0 g
- Digerido papaico de harina de soja5,0 g
- Cloruro sódico5,0 g
- Agar15,0 g

ANEXO 6: Cuadros de resultados de la siembra por disolución

Cuadro 7: lectura de los hongos F1 - F2 – F3

HONGOS -4 (F1)							
AREA DE CONTEO	Lecturas cámara de Neubauer					Promedio	Cocentración conidios/ g
1	11	10	9	6	7	8,15	1,30x10 ⁹
	6	10	10	5	5		
	8	3	6	15	10		
	8	6	12	9	7		
2	9	7	12	13	8	9,05	1,52x10 ⁹
	7	9	10	8	8		
	9	9	5	6	11		
	12	6	9	11	12		
TOTAL						82x10⁹(conidios/g)	

HONGOS -4 (F2)							
AREA DE CONTEO	Lecturas cámara de Neubauer					Promedio	Cocentración conidios/ g
1	8	7	9	6	10	7,8	1,24x10 ⁹
	5	7	6	8	5		
	9	5	9	11	12		
	8	6	9	9	7		
2	5	7	0	9	8	6,65	1,06x10 ⁹
	2	7	8	8	8		
	7	7	7	6	7		
	9	6	4	9	9		
TOTAL						2,3x10⁹(conidios/g)	

HONGOS -4 (F3)							
AREA DE CONTEO	Lecturas cámara de Neubauer			Promedio	conidios/ g		
1	8	7	9	6	7	6,55	1,04x10 ⁹
	5	7	6	8	5		
	5	5	2	8	4		
	8	6	9	9	7		
2	5	3	5	6	8	5,45	9,76x10 ⁹
	2	7	8	2	3		
	4	8	7	6	7		
	9	6	4	4	5		
TOTAL						1,08x10⁹(conidios/g)	

TOTAL HONGOS	
REPETICIÓN	RESULTADO
F1	2,82x10 ⁹ (conidios/g)
F2	2,3x10 ⁹ (conidios/g)
F3	1,08x10 ⁹ (conidios/g)
TOTAL	6,2x10⁹(conidios/g)

Cuadro 8: lectura de Fijadoras de Nitrógeno F1- F2 -F3

FIJADORAS DE NITROGENO -4 (F1)							
AREA DE CONTEO	Lecturas cámara de Neubauer			Promedio	Cocentración conidios/ g		
1	0	2	0	0	1	0,5	8,0x10 ⁹
	1	0	0	0	0		
	0	1	0	0	2		
	0	0	1	1	1		
2	0	0	0	0	0	0,3	4,8x10 ⁹
	1	0	0	0	1		
	1	1	0	0	1		
	0	0	0	1	0		
TOTAL						1,28x10⁹(conidios/g)	

FIJADORAS DE NITROGENO -4 (F2)							
AREA DE CONTEO	Lecturas cámara de Neubauer			Promedio	Cocentración conidios/ g		
1	2	0	1	3	1	1,5	2,40x10 ⁹
	2	1	2	2	1		
	1	3	3	1	2		
	2	0	0	2	1		
2	2	0	1	1	2	1,1	1,76x10 ⁹
	1	1	2	0	0		
	1	2	0	3	1		
	0	0	2	2	1		
TOTAL						4,16x10⁹(conidios/g)	

FIJADORAS DE NITROGENO -4 (F3)							
AREA DE CONTEO	Lecturas			Promedio	Cocentración conidios/ g		
1	2	1	1	0	1	1,2	1,92x10 ⁹
	1	1	0	2	2		
	2	2	1	2	2		
	0	0	2	1	1		
2	2	1	0	2	2	1,5	2,40x10 ⁹
	2	2	1	2	1		
	1	1	2	1	2		
	1	2	1	2	2		
TOTAL						4,32x10⁹(conidios/g)	

TOTAL DE FIJADORAS DE NITROGENO	
REPETICIÓN	RESULTADO
F1	1,28x10 ⁹ (conidios/g)
F2	4,16x10 ⁹ (conidios/g)
F3	4,32x10 ⁹ (conidios/g)
TOTAL	9,76x10⁹(conidios/g)

Cuadro 9: lectura de Actinomicetos F1- F2 -F3

ANTINOMICETOS -4 (F1)					Promedio	conidios/ g
AREA DE CONTEO	Lecturas cámara de					
1	1	0	0	1	0,4	6,4x10 ⁹
	0	1	0	0		
	0	0	0	0		
	1	0	1	0		
2	0	0	0	0	0,65	1,04x10 ⁹
	1	1	0	2		
	0	1	2	1		
	2	0	0	1		
TOTAL					7,44x10⁹(conidios/g)	

ANTINOMICETOS -4 (F2)					Promedio	conidios/ g
AREA DE CO	Lecturas cámara de Neubauer					
1	1	0	2	0	0,9	1,44x10 ⁹
	0	2	1	1		
	1	2	1	1		
	2	0	0	0		
2	1	2	0	0	0,9	1,44x10 ⁹
	2	1	2	1		
	1	2	0	1		
	2	1	0	0		
TOTAL					2,88x10⁹(conidios/g)	

ANTINOMICETOS -4 (F3)					Promedio	Cocentración conidios/ g
AREA DE CONTEO	Lecturas cámara de Neubauer					
1	2	1	1	1	1,1	1,76x10 ⁹
	1	2	1	1		
	2	0	0	0		
	1	2	2	0		
2	2	1	1	2	1,4	2,24x10 ⁹
	0	1	1	2		
	1	2	2	2		
	2	1	2	1		
TOTAL					4,0x10⁹(conidios/g)	

TOTAL DE ANTINOMICETOS		
REPETICIÓN	RESULTADO	
F1	7,44x10 ⁹ (conidios/g)	
F2	2,88x10 ⁹ (conidios/g)	
F3	4,0x10 ⁹ (conidios/g)	
TOTAL	1,43x10⁹(conidios/g)	

Cuadro 10: lectura de Microbiota Total F1- F2 -F3

MICROBIOTA TOTAL -4 (F1)					Promedio	Cocentración conidios/ g
AREA DE CONTEO	Lecturas cámara de Neubauer					
1	5	6	4	4	5,85	9,3x10 ⁹
	3	5	3	8		
	6	3	5	2		
	6	7	4	3		
2	6	8	4	2	5,4	8,6x10 ⁹
	4	6	7	10		
	0	5	3	4		
	7	7	4	7		
TOTAL					1,76x10⁹(conidios/g)	

MICROBIOTA TOTAL -4 (F2)					Promedio	Cocentración conidios/ g
AREA DE CONTEO	Lecturas cámara de Neubauer					
1	11	7	6	8	7,75	1,24x10 ⁹
	5	7	5	8		
	7	9	7	9		
	8	10	5	11		
2	11	9	12	9	8,25	1,32x10 ⁹
	7	7	10	10		
	8	5	8	8		
	5	4	9	9		
TOTAL					2,56x10⁹(conidios/g)	

MICROBIOTA TOTAL -4 (F3)					Promedio	Cocentración conidios/ g
AREA DE CONTEO	Lecturas cámara de Neubauer					
1	6	9	9	6	8,2	1,31x10 ⁹
	10	11	9	8		
	9	8	7	8		
	7	4	8	9		
2	6	9	9	6	7,75	1,24x10 ⁹
	7	5	9	7		
	10	11	9	8		
	2	8	9	6		
TOTAL					2,55x10⁹(conidios/g)	

TOTAL DE MICROBIOTA TOTAL	
REPETICIÓN	RESULTADO
F1	1,76x10 ⁹ (conidios/g)
F2	2,56x10 ⁹ (conidios/g)
F3	2,55x10 ⁹ (conidios/g)
TOTAL	6,87x10⁹(conidios/g)

ANEXO 7: Preparación de medios de cultivo

➤ **Preparación de medios de cultivo generales**

- Preparar 50 mL de medio de cultivo sólido general
- Fraccionar el medio de cultivo sólido: 20 mL de medio en cada caja petri.
- Rotular
- Acondicionar para esterilizar
- Esterilizar

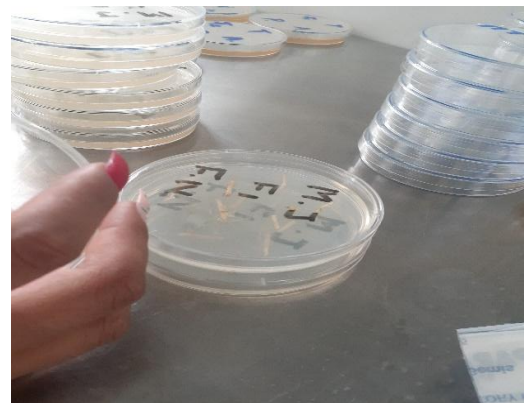
➤ **Preparación de cajas de petri**

- Pasar el medio de cultivo sólido preparado a cajas petri.

➤ **Siembra de raíz del suelo**

Colocar una parte de la raíz en 20 mL de medio de cultivo diferencial líquido (para bacterias fijadoras de nitrógeno, hongos y actinomicetos).









- Rotular
- Incubar a 28-30°C durante 15 días.



ANEXO 8: Tinción de Gram

Tinción de Gram

Es definida como una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a los microorganismos en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas y Gram positivas. Fue desarrollada por el científico danés Hans Christian Gram en 1884, a quien debe su nombre. Los fundamentos de la tinción de Gram están basados en las características de la pared celular de las bacterias Gram positivas y Gram negativas, la cual le confiere propiedades determinantes a cada microorganismo y determina sus características tintoriales, esta técnica se aplicó para detectar si son bacterias fijadoras de nitrógeno.

Pasos	Observación	Gram +	Gram -
1- Se tiñe el extendido con el colorante cristal violeta durante 1 minuto.	Todas las bacterias se tiñen de violeta.		
2- Se añade Lugol (solución de yodo-ioduro potásico) para fijar el colorante durante 1 minuto.	Todas las bacterias se tiñen de violeta.		
3- Se decolora el extendido con una mezcla de alcohol-acetona. Se enjuaga el extendido con agua.	Las bacterias Gram positivas se mantienen de color violeta y las Gram negativas se decoloran.		
4- Se tiñe el extendido con fucsina durante 30 segundos, que funciona como un colorante secundario y sirve para teñir las bacterias que no pudieron retener el complejo cristal violeta- yodo. Enjuagar el extendido con agua.	Las bacterias Gram positivas se mantienen violetas y las Gram negativas se tiñen de rosa.		



ANEXO 9: Análisis físico y químico de la muestra de suelo

MC-LASPA-2201-01

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

INFORME DE ENSAYO No: 21-0125

NOMBRE DEL CLIENTE: PATRICIA ESTEFANIA AREQUIPA CHUQUILLA	FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRA: 17/02/2021
PETICIONARIO: PATRICIA ESTEFANIA AREQUIPA CHUQUILLA	HORA DE RECEPCIÓN DE MUESTRA: 10:50
EMPRESA/INSTITUCIÓN: PATRICIA ESTEFANIA AREQUIPA CHUQUILLA	FECHA DE ANÁLISIS: 22/02/2021
DIRECCIÓN: QUAYTACAMA	FECHA DE EMISIÓN: 26/02/2021
	ANÁLISIS SOLICITADO: SUELO 3

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	
		ppm	ppm	ppm	ppm	meq/100g	meq/100g	meq/100g	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	meq/100g	%	%	Arena	Limo	Arcilla		Clase Textural
21-0471	7,49	P N	10 B	17 M	3,5 B	0,42 B	0,72 A	10,42 A	2,45 A	1,7 B	5,8 A	36 M	3,9 B	4,26	3,39	17,84	13,58	1,0	B				P2-3

Análisis	AH+*	Al*	Na*	C.E.*	N. Total	N-NO3*	K H2O*	P H2O*
Unidad	meq/100g			dSm	%	ppm	ppm	ppm

OBSERVACIONES:

* Ensayos no solicitados por el cliente

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

INTERPRETACION		
pH	Elemento	
Ac = Acido	N = Neutro	B = Bajo
LAc = Liger. Acido	LAl = Lige. Alcalino	M = Medio
PN = Prac. Neutro	Al = Alcalino	A = Alto
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
AH+ =	Tubulción NaOH

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



LABORATORISTA



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

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 dirigida 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.