



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
CARRERA DE AGRONOMÍA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“ANÁLISIS DE COMUNIDADES BACTERIANAS ASOCIADO A LA RIZOSFERA DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*) EN LA COOPERATIVA COTOPILALO, PARROQUIA TOACASO, PROVINCIA DE COTOPAXI 2023.”

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingenieras Agrónomas.

Autores:

Angamarca Colala Morayma Coley

Chilla Erazo Jeniffer Paulina

Tutor:

Chasi Vizuete Wilman Paolo

LATACUNGA – ECUADOR

Julio 2023

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Morayma Coley Angamarca Colala, con cédula de ciudadanía No. 1723944847 y Jeniffer Paulina Chilla Erazo con cédula de ciudadanía No. 0504615071, declaramos ser autoras del presente proyecto de investigación: “Análisis de comunidades bacterianas asociado a la rizósfera del mortiño (*Vaccinium floribundum*) en la Cooperativa Cotopilalo, Parroquia Toacaso, Cotopaxi 2023.”, siendo el Ingeniero Mg. Wilman Paolo Chasi Vizuete Tutor del presente trabajo; y, eximimos expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

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

Latacunga, 20 de julio del 2023

Morayma Coley Angamarca Colala
Estudiante
CC: 1723944847

Jeniffer Paulina Chilla Erazo
Estudiante
CC: 0504615071

Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete, Mg.
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 **ANGAMARCA COLALA MORAYMA COLEY**, identificada con cédula de ciudadanía **1723944847** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, 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 Agronomía, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Análisis de comunidades bacterianas asociado a la rizósfera del mortíño (*Vaccinium floribundum*) en la Cooperativa Cotopilalo, Parroquia Toacaso, Cotopaxi 2023.”, 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: Marzo 2019 - Agosto 2019

Finalización de la carrera: Abril 2023 – Agosto 2023

Aprobación en Consejo Directivo: 30 de noviembre del 2022

Tutor: Ingeniero Mg. Wilman Paolo Chasi Vizúete

Tema: “Análisis de comunidades bacterianas asociado a la rizósfera del mortíño (*Vaccinium floribundum*) en la Cooperativa Cotopilalo, Parroquia Toacaso, Cotopaxi 2023”

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 20 días del mes de julio 2023.

Morayma Coley Angamarca Colala

LA CEDENTE

Dra. Idalia Pacheco Tigselema

LA CESIONARIA

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 **CHILLA ERAZO JENIFFER PAILINA** identificada con cédula de ciudadanía **0504615071** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, 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 Agronomía titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de “Análisis de comunidades bacterianas asociado a la rizósfera del mortíño (*Vaccinium floribundum*) en la Cooperativa Cotopilalo, Parroquia Toacaso, Cotopaxi 2023.”, 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: Marzo 2019- Agosto 2019

Finalización de la carrera: Abril 2023 – Agosto 2023

Aprobación en Consejo Directivo: 30 de noviembre del 2022

Tutor: Ingeniero Mg. Wilman Paolo Chasi Vizúete

Tema: “Análisis de comunidades bacterianas asociado a la rizósfera del mortíño (*Vaccinium floribundum*) en la Cooperativa Cotopilalo, Parroquia Toacaso, Cotopaxi 2023.”

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 20 días del mes de julio del 2023.


Jeniffer Paulina Chilla Erazo
LA CEDENTE

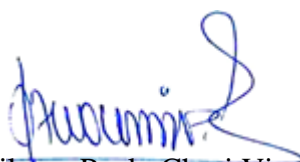
Dra. Idalia Pacheco Tigselema
LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“ANÁLISIS DE COMUNIDADES BACTERIANAS ASOCIADO A LA RIZÓSFERA DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*) EN LA COOPERATIVA COTOPILALO, PARROQUIA TOACASO, COTOPAXI 2023.”, de Angamarca Colala Morayma Coley y Jeniffer Paulina Chilla Erazo , de la carrera de Agronomía, 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, 20 de julio del 2023



Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete, Mg.

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, los postulantes: Angamarca Colala Morayma Coley y Jeniffer Paulina Chilla Erazo, con el título del Proyecto de Investigación: “ANÁLISIS DE COMUNIDADES BACTERIANAS ASOCIADO A LA RIZÓSFERA DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*) EN LA COOPERATIVA COTOPILALO, PARROQUIA TOACASO, COTOPAXI 2023.”, han 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 realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 20 de julio del 2023



Lector 1 (Presidente)
Ing. Alexandra Isabel Tapia Borja, Mg.
CC: 0502661754



Lector 2
Ing. Francisco Hernán Chancusig, Mg.
CC: 0501883920



Lector 3
Ing. Clever Gilberto Castillo de la Guerra, Mg.
CC: 0501715494

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la vida, por darme la oportunidad de cumplir un peldaño más en mi vida, le agradezco también por haberme dado una familia maravillosa, quienes siempre han creído en mí, por haberme premiado con unos padres increíbles que me dieron el ejemplo de superación, humildad y sacrificio, enseñándome a valorar todo lo que tengo, agradezco a la Universidad "UTC" por haberme abierto sus puertas, para formarme profesionalmente, a mis docentes por las diferentes formas de enseñar, quienes me incentivaron en muchos sentidos a seguir adelante y a todas las personas que estuvieron en las buenas y en las malas junto a mí, sin su apoyo esto no hubiera sido posible, a todos ellos dedico el presente proyecto de investigación.

Morayma Coley Angamarca Colala

AGRADECIMIENTO

En estas líneas no me bastan para agradecer por todo lo que dios me ha dado en especial que es la vida misma, la vida que dios me premio dándome unos padres ejemplares que guiaron mi camino día a día enseñándome valores como la sencillez, humildad, respeto y sobre todo me enseñaron a luchar para cumplir los objetivos planteados, también quiero agradecer a dios por darme la dicha de ser madre de una gran hija que me inspiro a ser cada día mejor persona y a superarme, también agradezco a mis hermanas por el apoyo incondicional que me han brindado en este arduo camino y en especial gratifico a la “Universidad Técnica De Cotopaxi” por abrir sus puertas para emprender mi formación académica del mismo modo expando mis agradecimientos a todos los docentes que cada día fueron compartiendo sus conocimientos con sus alumnos.

Muchas gracias a todas aquellas personas que estuvieron para mí, dándome ánimos, y sobre todo que confiaron en mí, estuvieron en los momentos de tristezas y alegrías siendo mi motivo de sonreír y no darme por vencida.

Jeniffer Paulina Chilla Erazo

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación se lo dedico con todo mi corazón a mis padres, pues sin ellos no lo hubiese logrado, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, motivándome constantemente a lograr mis metas, apoyándome siempre moral y económicamente, sobre todo dándome ese apoyo y amor incondicional.

Morayma Coley Angamarca Colala

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mis padres quienes me han apoyado incondicionalmente ya sea de manera económica, emocional, con mucho amor y fortaleza, además me dieron apoyo con tiempo y cuidado hacia mi hija mientras yo estudiaba asimismo se la dedico a mi hija porque ella ha sido mi inspiración para no rendirme y es mi motor fundamental de la vida para seguir de pie a pesar de las adversidades. También es fundamental mencionar a mis abuelitos paternos, maternos y en especial a mis hermanas y sobrinas siendo ellas una más de mis inspiraciones para seguir con mis estudios, igualmente a mis angelitos que desde el cielo me cuidan y guían mis pasos.

Esto del mismo modo va dedicado a mis amistades que fueron fundamentales en este camino a recorrer porque hemos compartido muchos sentimientos y momentos que se quedarán guardados en el corazón.

Jeniffer Paulina Chilla Erazo

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “ANÁLISIS DE COMUNIDADES BACTERIANAS ASOCIADO A LA RIZÓSFERA DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*) EN LA COOPERATIVA COTOPILALO, PARROQUIA TOACASO, COTOPAXI 2023.”

AUTORES: Angamarca Colala Morayma Coley
Chilla Erazo Jeniffer Paulina

RESUMEN

El presente proyecto investigativo se realizó en la cooperativa de Cotopilalo, parroquia Toacaso, provincia de Cotopaxi teniendo como objetivo general de analizar las comunidades asociadas a la rizósfera del mortiño (*Vaccinium floribundum*), en dos pisos altitudinales de 3928 y 3673 msnm, mediante un análisis metagenómico y un análisis de suelo.

Se planteó objetivos específicos tales como: Identificar diversidad bacteriana de la rizosfera del mortiño, agrupar las comunidades bacterianas por especie relacionadas a la rizosfera del mortiño.

En el estudio se realizó varias actividades como fueron: la delimitación del área de estudio mediante el GPS (Global Positioning System) con el cual nos ayudó a determinar la altura y las coordenadas X, Y de cada uno de los pisos altitudinales, posterior se tomó las muestras de la rizosfera del mortiño en el área de estudio, se procede a tomar las submuestras. Para ello se hace un recorrido sobre el terreno en forma de zig-zag, tomando submuestras en cada vértice, una vez listas las muestras se envió al laboratorio Bio-Sequence para su respectivo análisis, de igual manera se realizó la determinación de propiedades físico- químicas mediante un análisis de suelo en el laboratorio Agrar-PROJEKT.

Con los resultados obtenidos de los dos análisis, se realizó el alineamiento para obtener un árbol taxonómico de comunidades bacterianas identificadas por especie en cada piso altitudinal y el dendograma de agrupación de especies entre el suelo 1 y 2.

Finalmente se determinó que el suelo 1 es el más diverso debido a que no ha sido tratado por el ser humano ni animales siendo la Candidatus Solibacter, la bacteria más diversa y dominante en este piso altitudinal tomando en cuenta que en este cultivo influye considerablemente las condiciones edáficas.

Palabras clave: Rizósfera, Metagenómico, Comunidades Bacterianas, Mortiño Silvestre, Candidatus Solibacter.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES

THEME: “ANALYSIS OF BACTERIAL COMMUNITIES ASSOCIATED WITH THE RHIZOSPHERE OF THE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*) CROP IN THE COOPERATIVE COTOPILALO, TOACASO PARISH, COTOPAXI, 2023.”

AUTHORS: Angamarca Colala Morayma Coley
Chilla Erazo Jeniffer Paulina

ABSTRACT

This research project was carried out in the Cotopilalo cooperative, Toacaso parish, Cotopaxi province, with the general objective of analyzing the communities associated with the mortiño rhizosphere (*Vaccinium floribundum*), in two altitudinal floors of 3928 and 3673 masl, through an analysis metagenomic and soil analysis.

Specific objectives were raised such as: Identify bacterial diversity of the rhizosphere of the mortiño, group the bacterial communities by species related to the rhizosphere of the mortiño.

In the study, several activities were carried out, such as: the delimitation of the study area by means of GPS (Global Positioning System) by which it helped us to determine the height and the X, Y coordinates of each one of the altitudinal floors, later it was taken the samples of the rhizosphere of the mortiño in the study area, we proceed to take the subsamples. For this, a zig-zag route is made on the ground, taking subsamples at each vertex, once the samples are ready, they are sent to the Bio-Sequence laboratory for their respective analysis, in the same way the determination of physical-physical properties is carried out. chemicals through a soil analysis in the Agrar-PROJEKT laboratory.

With the results obtained from the two analyses, the alignment was carried out to obtain a taxonomic tree of bacterial communities identified by species in each altitudinal level and the species grouping dendrogram between soil 1 and 2.

Finally, it was determined that soil 1 is the most diverse because it has not been treated by humans or animals, *Candidatus Solibacter* being the most diverse and dominant bacterium in this altitudinal floor, taking into account that the conditions considerably influence this crop. Edaphic

Keywords: Rhizosphere, Metagenomics, Bacterial Communities, Mortiño Silvestre, *Candidatus Solibacter*.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	v
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vii
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	viii
AGRADECIMIENTO	ix
AGRADECIMIENTO	x
DEDICATORIA.....	xi
DEDICATORIA.....	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
ÍNDICE DE CONTENIDO	xiv
ÍNDICE DE TABLAS.....	xvii
ÍNDICE DE FIGURAS	xviii
ÍNDICE DE ANEXOS	xix
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	2
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	3
5. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	4
6. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN	5
6.1. Objetivo General.....	5
6.1. Objetivos Específicos	5
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	6
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	7
8.1. Origen del mortiño silvestre.....	7
8.2. Generalidades del mortiño silvestre (<i>Vaccinium floribundum</i>)	7
8.3. Clasificación Taxonómica	7
8.4. Características Morfológicas	8
8.4.1. Hojas.....	8

8.4.2.	Flores	8
8.4.3.	Fruto	9
8.4.4.	Tallo.....	9
8.4.5.	Raíz.....	9
8.5.	Crecimiento y Desarrollo del mortiño silvestre.	10
8.6.	Características Agronómicas	10
8.7.	Características edafoclimáticas	10
8.8.	Conceptos relacionados a la biotecnología	10
8.8.1.	Análisis de biodiversidad	10
8.8.2.	Análisis metagenómico 16SRNA.....	11
8.8.3.	MEGA sequence.....	12
8.8.4.	Alineamiento	12
8.8.5.	Dendograma o árbol filo genético	12
9.	PREGUNTA CIENTÍFICA.....	12
10.	METODOLOGIA.....	12
10.1.	Tipo de investigación	12
10.1.1.	Investigación Descriptiva.....	12
10.1.2.	Cualitativa.....	13
10.2.	Modalidad básica de investigación	13
10.2.1.	De campo	13
10.2.2.	Bibliográfica Documental.....	13
10.3.	Delimitación del área de estudio	13
10.3.1.	Características del Sitio Experimental.....	13
10.4.	Recolección de muestras de la rizófora del mortiño en el área de estudio.....	14
10.4.1.	Toma de muestras	14
10.4.2.	Herramientas para el muestreo	15
10.4.3.	Manejo de la muestra	15
10.4.4.	Empaquetado y etiquetado de muestras.....	15
10.4.5.	Calidad de muestra.....	16
10.4.6.	Almacenamiento	16
10.4.7.	Análisis metagenómico bacteriano	16
10.4.8.	Pasos a seguir para la secuenciación.....	16
10.4.9.	Análisis de coordenadas principales	17

10.4.10.	Evaluación de índices de diversidad (índice de Shannon).....	17
10.5.	Determinación de comunidades de mayor presencia en relación a las especies (índice de Simpson).....	18
10.6.	Relación de comunidades entre las dos alturas.	19
10.7.	Análisis de suelo.....	19
10.7.1.	Parámetros analizados.....	20
11.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	21
11.1.1.	Árbol taxonómico de cada piso altitudinal	21
11.2.	Tabla de datos de diversidad (Shannon).	23
11.2.1.	Tabla de especies presentes en el suelo 1	23
11.2.2.	Tabla de especies presentes en el suelo 2	24
11.3.	Dendograma de agrupación de especies del suelo 1 y 2	28
11.4.	Tabla de datos de las características del suelo, micro y macro nutrientes.	30
12.	IMPACTOS	31
12.1.	Impactos Ambientales	31
13.	CONCLUSIONES.....	32
14.	RECOMENDACIONES	32
15.	BIBLIOGRAFIA.....	33
16.	ANEXOS.....	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Beneficiarios del proyecto.....	4
Tabla 2: Actividades y sistema de tareas con relación a los objetivos planteados.....	6
Tabla 3: Clasificación taxonómica	8
Tabla 4: Características agronómicas de la variedad <i>Vaccinium floribundum</i>	10
Tabla 5: Coordenadas del suelo 1	13
Tabla 6: Coordenadas del suelo 2.....	13
Tabla 7: Codificación de muestras	15
Tabla 8: Secuenciación.....	16
Tabla 9: Escala de diversidad biológica	18
Tabla 10: Escala de índice de dominancia biológica.....	19
Tabla 11: Parámetros analizados en la determinación de propiedades físico- químicas del suelo.	20
Tabla 12: Especies presentes en el suelo 1	23
Tabla 13: Diversidad de especies presentes en el suelo 2	24
Tabla 14: Índice de diversidad según Shannon y Simpson en el suelo 1	25
Tabla 15: Índice de diversidad según Shannon y Simpson en el suelo 2	27
Tabla 16: Análisis de suelo.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: fruto de mortiño silvestre.....	7
Figura 2: Hoja de mortiño silvestre.....	8
Figura 3: Flores de mortiño silvestre.....	9
Figura 4: Fruto de mortiño silvestre.....	9
Figura 5: Tipos de análisis de biodiversidad.....	11
Figura 6: Mapa del sitio de muestreo	14
Figura 7: Técnica de zig-zag	14
Figura 8: Toma de muestra con pala	15
Figura 9: Árbol taxonómico del suelo1	21
Figura 10: Árbol taxonómico del suelo 2.....	22
Figura 11: Árbol taxonómico/ Dendograma suelo 1 y 2.....	28

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Aval del Traductor	36
Anexo 2: Análisis del suelo	37
Anexo 3: Delimitación del lugar para la toma de muestras suelo 1	37
Anexo 4: Coordenadas GPS de cada piso altitudinal	38
Anexo 5: Recolección de muestras.....	38
Anexo 6: Preparación de las muestras.....	39
Anexo 7: Etiquetado de muestras	39
Anexo 8: Análisis de suelo.....	40
Anexo 9: Análisis meta genómico.....	41
Anexo 10: Índice de Shannon y Simpson en suelo 1 y 2	42

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

“ANÁLISIS DE COMUNIDADES BACTERIANAS ASOCIADO A LA RIZOSFERA DEL CULTIVO DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*), EN LA COOPERATIVA DE COTO PILALO, PARROQUIA TOACASO, PROVINCIA DE COTOPAXI 2023”

Fecha de inicio:

Octubre 2022

Fecha de finalización:

Julio 2023

Lugar de ejecución:

Localidad de la Cooperativa Cotopilaló -Cantón Latacunga- Provincia de Cotopaxi.

Facultad que auspicia

Facultad De Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

Carrera que auspicia:

Ingeniería Agronómica.

Equipo de Trabajo:

Responsable del Proyecto: Ing. M.Sc. Chasi Vizuite Wilman Paolo

Tutor: Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuite, Mg.

Investigador 1: Angamarca Colala Morayma Coley

Investigador 2: Chilla Erazo Jeniffer Paulina

Lector 1: Ing, Tapia Borja Alexandra Isabel, Mg

Lector 2: Ing, Yauli Chicaiza Guido Euclides, Mg

Lector 3: Ing. Chancusig Hernan Francisco, Mg

Coordinador del Proyecto:

Nombre/s: Angamarca Colala Morayma Coley

Teléfonos: 0984594765

Correo electrónico: morayma.angamarca4847@utc.edu.ec

Nombre/s: Chilla Erazo Jeniffer Paulina

Teléfonos: 0985617986

Correo electrónico: jennifer.chilla5071@utc.edu.ec

Área de Conocimiento:

Agricultura- Agricultura, silvicultura y pesca- Agronomía.

Línea de investigación:

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local.

Sub líneas de investigación:

Caracterización de la biodiversidad

Línea de vinculación de la carrera:

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

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

En la presente investigación se identificaron las diferentes comunidades bacterianas en la rizósfera del mortiño silvestre en dos pisos altitudinales.

En este estudio, se utilizaron dos análisis de suelo diferentes, como fue un análisis de suelo y un análisis metagenómico 16RNA para determinar qué tipos de comunidades bacterianas estaban presentes en cada suelo y de esta manera comprender qué tan perjudicial fue la degradación de la frontera agrícola, ya que las plantas de mortiño silvestre necesitan características edafoclimáticas por lo que no han podido ser cultivadas. Y solo están presentes en el páramo que no ha sido manipulado, razón por la cual estos análisis muestran un desgaste físico y químico del suelo. Para establecer la relación evolutiva entre bacterias, se deben determinar y comparar las secuencias de nucleótidos de su rRNA 16S, y el porcentaje de similitud entre ellas indicará el grado de su parentesco.

Mediante la plataforma digital “MEGA sequence” se realizó la alineación de las distintas bacterias encontradas en las muestras de suelo de las dos alturas tomadas en cuenta dando, así como resultado un árbol taxonómico con las especies de bacterias más predominantes en el suelo, tales como Ktedonobacter, Thermosporothrix, Aquisphaera, Candidatus, entre otras.

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El mortiño es una planta ecuatoriana de gran valor social, económico, cultural, ambiental, de producción nacional e internacional, posee numerosos beneficios nutricionales y medicinales

y puede crear múltiples alternativas innovadoras en diversos campos, existen algunas investigaciones enfocadas en los frutos de esta especie así como sobre las propias plantas, pero no se han realizado estudios relacionados con la asociación de comunidades bacterianas rizosféricas y grupos funcionales de esta especie, por lo que es necesaria la siguiente investigación, que nos permitirá conocer mejor las bacterias que ayudan y afectan las plantas, el desarrollo y crecimiento del mortiño y como se puede aplicar en campo para una buena producción de esta especie. (Vargas Ortega, 2021).

La frontera agrícola de las comunidades productivas empuja hacia páramos donde la agricultura se ha elevado a aproximadamente 3.000 a 4.000 msnm debido al uso excesivo de fertilizantes sintéticos, mal manejo de labranza, maquinaria, etc., lo que ha exacerbado la erosión de los suelos haciéndolos no aptos para la agricultura, productividad, lo que significa que toda la flora de la zona ha desaparecido o disminuido, incluido el mortiño silvestre, y se ven afectados por el cambio climático por las altas temperaturas y la falta de recursos. Las precipitaciones provocaron un desequilibrio en el desarrollo normal de todas las especies e incluso cambios relativos en la microbiota del propio suelo, por lo que fue necesario identificar qué comunidades bacterianas estaban presentes en el cultivo en las condiciones actuales, en suelos a diferentes altitudes. (MONROY CUBIDES , 2009)

La principal característica de la rizósfera es su abundancia de energía, manifestada por la gran cantidad de materia orgánica transferida por las raíces como producto de su metabolismo, y por su ambiente rico en energía y nutrientes, la rizósfera alberga grandes poblaciones de la mayoría plantas. La microbiota del suelo y las partes aéreas de las plantas que crean un hábitat para las bacterias, las superficies de las hojas proporcionan un hábitat natural para que las bacterias crezcan y se reproduzcan. (Vargas Ortega G. , 2001)

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.

Nuestros beneficiarios son socios de la Cooperativa Cotopilalo con sede en la parroquia de Toacaso, provincia de Cotopaxi, mediante el análisis se identificó las comunidades bacterianas existentes en el suelo, dando a conocer la importancia de no convertir los páramos en suelos agrícolas, reduciendo así la pérdida de su valor nutritivo, debido al uso de grandes cantidades de productos químicos. Esto también permitirá tomar decisiones acertadas para sacar el máximo partido al páramos, teniendo en cuenta la correcta gestión del Mortiño, convirtiéndolo en una fuente de ingresos, ya que se espera que las parcelas del Mortiño se generen a través de la gestión técnica, para tener una producción comercial sostenible.

En esta sección se establecen los beneficiarios tanto directos como indirectos del proyecto de investigación, presentados a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1: Beneficiarios del proyecto

DIRECTOS	INDIRECTOS
64 Familias de la cooperativa Cotopilaló	9269 habitantes (Parroquia Toacaso) Productores de mortiño en el Ecuador (directos)

Fuente: (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Toacaso, 2020)

5. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Según (Ferrera, 2001) dice que, actualmente, el suelo se está deteriorando, y debido a los efectos adversos de los fertilizantes químicos en el suelo, tiene un impacto negativo en la comunidad microbiana del suelo, causando pérdidas económicas a las áreas agrícolas. Por lo tanto, estudiar la relación entre los microbios y las plantas es importante porque puede establecer relaciones entre los tipos de suelo, las especies de plantas y la microbiota asociada. En el Ecuador, el páramo cubre alrededor de 1.250.000 ha, es decir aproximadamente un 6% del territorio nacional. En términos relativos, el Ecuador es el país que más páramos tiene con respecto a su extensión total ya que sus suelos típicamente son muy negros y húmedos. En los páramos ecuatorianos las actividades humanas han ocasionado la destrucción del bosque natural en un 90% y cada año aumenta en un 2%. (Díaz, 2005)

El mayor problema es la erosión del suelo, con el consiguiente desgaste físico, pérdida de base nutritiva y humedad, y actividad microbiana, comprometiendo la fertilidad y productividad del suelo, comprometiendo la seguridad de la sociedad ecuatoriana y la soberanía agroalimentaria. (Ferrera, 2001)

Como consecuencia de las actividades humanas, gran parte de la superficie de páramos está desapareciendo a medida que se expanden las actividades agrícolas, ganaderas y forestales. (Giné y Galarza, 2001)

El estudio desarrollado por (Martínez, 2017) titulado “Régimen de humedad del suelo de páramo y su relación con las prácticas socioculturales de manejo ante la variabilidad climática” determinó que la humedad del suelo en el páramo no intervenido se conserva de una mejor manera en la época de invierno ya que posee el 66% de humedad, en cambio en el suelo intervenido posee el 42% de humedad, debido a que las prácticas agrícolas han causado alteraciones en el mismo. En la época de verano los porcentajes de humedad son bajos en

comparación a la época de invierno, el 42% representa el suelo de páramo no intervenido, mientras que el suelo de páramo intervenido posee el 25% de humedad.

(Calvo y ZUñiga, 2005) En su estudio titulado: “Diversidad microbiana del suelo” menciona que el análisis de las poblaciones microbianas indican la salud de un ecosistema, se encuentran comunidades bacterianas en la rizósfera de diversos cultivos que determina una presencia alta de microorganismos principalmente de los géneros *Pseudomonas*, *Aetherobacter*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*.

Es por esto que la presente investigación se enfoca en la caracterización del hábitat del crecimiento del mortiño asociadas a su rizósfera en dos pisos altitudinales completamente diferentes, de esta manera determinar qué es lo que pasa realmente con este agro ecosistema y seguido darle un mejor manejo, insumos, incorporar micro o macro organismos, etc., enfocándonos siempre en la preservación de este cultivo y el cuidado del páramo.

6. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

6.1. Objetivo General

Analizar las comunidades bacterianas asociadas a la rizósfera del mortiño (*Vaccinium floribundum*)

6.1. Objetivos Específicos

- Identificar diversidad de especies bacterianas en la rizósfera del mortiño en la Cooperativa Cotopilaló de Toacaso.
- Agrupar las comunidades bacterianas por especies relacionadas a la rizósfera del mortiño en dos pisos altitudinales.

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

Tabla 2: Actividades y sistema de tareas con relación a los objetivos planteados.

Objetivo 1	Actividad (tareas)	Resultado de la actividad	Medio de verificación
<p>Identificar diversidad bacteriana de la rizósfera del mortiño en la cooperativa Cotopilalo de Toacaso.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Delimitación del área de estudio. • Recolección de muestras de la rizósfera del mortiño en el área de estudio. • Análisis metagenómico bacteriano • Evaluación de índices diversidad 	<ul style="list-style-type: none"> • Área Georreferenciada. • Muestreo de la rizósfera del mortiño. • Comunidades bacterianas asociadas a la rizósfera identificadas. • Diversidad de especies bacteriana 	<ul style="list-style-type: none"> • Árbol taxonómico de comunidades bacterias identificadas por especie en cada piso altitudinal. • Tabla de datos de diversidad (Índice de Shannon).
Objetivo 2	Actividad (tareas)	Resultado de la actividad	Medio de verificación
<p>Agrupar las comunidades bacterianas por especie relacionadas a la rizósfera del mortiño en dos pisos altitudinales.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Determinación de comunidades de mayor presencia. • Relación de comunidades entre las dos alturas. • Análisis de suelo 	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación de los grupos bacterianos con mayor presencia en la rizósfera. • Dendogramas de agrupación estadística de las especies de bacterias. • Determinación de las propiedades físico-químicas del suelo 	<ul style="list-style-type: none"> • Tablas de Índices de Dominancia (índice de Simpson). • Dendograma de agrupación de especies entre suelo 1 y 2. • Tabla de datos de las características del suelo, micro y macro nutrientes.

8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

8.1. Origen del mortiño silvestre.

En el Ecuador *Vaccinium floribundum* es considerada como una planta silvestre que crece en las parte altas de los páramos desde el Ángel en el Carchi hasta Tambo en Cañar, además se conocen datos proporcionados por el Parque Nacional Cotopaxi que ubican a la zona de adaptación del mortiño silvestre desde los 1000 msnm, hasta los 4500 msnm, pero la realidad es que son pocos los páramos que poseen un número considerable de plantas, debido a la extensión de las fronteras agrícolas que se ha manipulado a esta especie. (MAGAP, 1988).

8.2. Generalidades del mortiño silvestre (*Vaccinium floribundum*)

En páramos ecuatorianos es considerada endémica y ha sido utilizada por sus habitantes desde tiempos pasados principalmente en el Día de los Difuntos para la elaboración de la colada morada. En la actualidad, aunque es poco común se lo emplea para consumo fresco como: jugos, mermeladas y dulces. Sus frutos tienen contenidos importantes de azúcares, minerales, antioxidantes, vitaminas del complejo B, C y minerales como potasio, calcio, y fósforo. (Morales, 2011)

Figura 1: fruto de mortiño silvestre



Fuente: (Vasco, 2009)

8.3. Clasificación Taxonómica

Según manifiesta Freire, (2004) la clasificación taxonómica del mortiño silvestre (*Vaccinium floribundum*) se muestra en la Tabla 1.

Tabla 3: Clasificación taxonómica

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
Nombre Científico	Vaccinium floribundum.
Nombre Común	Mortiño silvestre.

Fuente: (Vasco, 2009)

8.4. Características Morfológicas

8.4.1. Hojas

Las hojas se presentan con características como: coriáceas, elípticas, ovadas, de base redondeada, ápice redondeado, muy pequeñas de 4 a 11 mm, de margen aserrado, con una nervadura pinnada y un peciolo poco piloso (Luteyn, 2012).

Figura 2: Hoja de mortiño silvestre

Fuente: (EIA, 2006)

8.4.2. Flores

Inflorescencia axilar, racimosa, con un número de flores de 6-10 por racimo, raquis estriado, flores hasta 8 mm de largo, cáliz de 2.5-3 mm, corola cilíndrica, blanca o rosa a rojiza, ovario ínfero. (Fernandez, 2015)

Figura 3: Flores de mortiño silvestre



Fuente:(EIA, 2006)

8.4.3. Fruto

Los frutos son bayas esféricas, de 5-8 mm de diámetro, color negro-azules, con una cubierta cerosa (Freire, 2015)

Figura 4: Fruto de mortiño silvestre



Fuente: (EIA, 2006)

8.4.4. Tallo

Rugoso, a veces verrugoso y labro.

8.4.5. Raíz

El sistema radical es superficial, situándose el 80% de éste en los primeros 40 cm, tiene raíces finas y fibrosas que se caracterizan por la ausencia de pelos absorbentes. Entre las raíces y la parte aérea se encuentra la corona, que tiene la capacidad de emitir brotes. En la mayoría de los casos se asocia de forma natural con una micorriza formando una simbiosis, traducándose ésta en un mayor desarrollo vegetativo. Es sensible al encharcamiento en suelos pesados.

8.5.Crecimiento y Desarrollo del mortiño silvestre.

El mortiño silvestre crece abundantemente en los páramos andinos, éstos presentan condiciones de gran valor ecológico, social y geográfico debido a su capacidad de almacenar agua, capacidad de retener carbono del ambiente y por poseer la mayor biodiversidad en ecosistemas de la alta montaña en el mundo, con temperaturas variables como frío congelante en la noche y calor a más de 25°C en el día (Llambí, 2012).

La caracterización de factores bióticos y abióticos en páramos andinos es prioritaria para determinar sus interacciones y efectos sobre el crecimiento del mortiño, teniendo en cuenta que esta especie no crece en ecosistemas artificiales sino en estado silvestre. Entre los factores bióticos se describen principalmente la vegetación, los microorganismos y la microfauna, mientras que para los factores abióticos se describirá el clima, la hidrología, el tipo y composición del suelo.

8.6.Características Agronómicas

Tabla 4: Características agronómicas de la variedad *Vaccinium floribundum*.

Características	Descripción
Habito de crecimiento del cultivo	Arbustivo
Disposición de las flores	Racimo
Composición de las hojas	Simple
Composición de las hojas en el tallo	alterna
Tipo de fruto	Baya

Fuente: (Sanchez, 2018)

8.7.Características edafoclimáticas

Se encuentran desde un piso altitudinal desde los 500 hasta los 4500 msnm. La temperatura media anual se encuentra desde 2°C hasta los 10°C y la precipitación dependiendo del tipo de páramo. (Llambí, 2012).

8.8.Conceptos relacionados a la biotecnología

8.8.1. *Análisis de biodiversidad*

Para estudiar la biodiversidad es importante reconocer que elementos o entidades la componen. La realización de inventarios facilita describir y conocer la estructura y función de los diferentes niveles jerárquicos, para su aplicación, uso manejo y conservación de los recursos. (Haila, 1996).

Los tipos de análisis de biodiversidad se pueden clasificar según la Figura 5

Figura 5: Tipos de análisis de biodiversidad.



Dentro de los tipos de análisis de biodiversidad tenemos a nivel macro, micro, genético cuando hablamos a nivel macro nos referimos a la caracterización de los reinos, como: reino animal, reino plantae, reino fungí, virus, bacterias. En el cual podemos determinar la cantidad de individuos existentes en cada uno de estos reinos.

Al hablar a nivel micro nos referimos a las relaciones ecológicas entre reinos proporcionando vínculos de, abundancia, riqueza y poblaciones en un mismo ecosistema.

A nivel genético nos referimos al ADN, ARN, genoma, metaboloma y proteoma.

Dentro del genoma hablamos que hay genoma de bacterias anaerobias, aerobias acidofilicas sulforeductoras.

8.8.2. Análisis metagenómico 16SRNA

La metagenómica está basada en el uso de métodos de biología molecular para analizar la diversidad de genomas microbianos, llamados también metagenomas, a partir de las muestras

ambientales. La diversidad microbiana de los metagenomas se ha analizado mediante el uso del gen 16S rRNA, que codifica para el ARN ribosómico que conforma la unidad pequeña de los ribosomas. Este gen comprende regiones almacenadas y variables en bacterias y arqueas. El gen 16S rRNA se ha utilizado como marcador molecular, ya que permite clasificar a las bacterias y arqueas en grandes grupos taxonómicos de acuerdo con las familias, géneros y especies. (Cortéz López, 2020)

8.8.3. MEGA sequence

Es una herramienta integrada para realizar alineaciones de secuencias automáticas y manuales, inferir árboles filogenéticos, extraer bases de datos.

8.8.4. Alineamiento

En términos simples el alineamiento de secuencias es el proceso en el cual diferentes secuencias son comparadas mediante la búsqueda de patrones de caracteres comunes y el establecimiento de correspondencias residuo-residuo entre secuencias relacionadas (Rodríguez, 2011).

8.8.5. Dendograma o árbol filo genético

Es una representación gráfica que muestra las relaciones evolutivas entre distintas especies o grupos de organismos. En estos árboles, las ramas representan las relaciones de parentesco y las distancias entre ellas indican la cantidad de cambios evolutivos que han ocurrido a lo largo del tiempo

9. PREGUNTA CIENTÍFICA

¿El análisis metagenómico bacteriano permitirá identificar y agrupar comunidades bacterianas relacionadas a la rizosfera del mortño silvestre *Vaccinium floribundum*?

10. METODOLOGIA

10.1. Tipo de investigación

10.1.1. Investigación Descriptiva

La presente investigación es de tipo descriptiva ya que busca describir y explicar las comunidades bacterianas asociadas a la rizósfera del mortño silvestre (*Vaccinium floribundum*).

10.1.2. Cualitativa

La investigación es cualitativa ya que mediante la plataforma MEGA sequence, se observará el árbol taxonómico de bacterias más prevalecientes y dominantes asociadas a la rizósfera, en dos pisos altitudinales completamente diferentes.

10.2.Modalidad básica de investigación

10.2.1. De campo

Esta investigación se define en campo, ya que se apoya en información que proviene de observación y análisis mediante la recolección de muestras del cultivo.

10.2.2. Bibliográfica Documental

Las fuentes bibliográficas, documentos y otros materiales son de gran ayuda para obtener información y de esa manera detallar el árbol taxonómico bacteriano y clasificarlo.

10.3.Delimitación del área de estudio

10.3.1. Características del Sitio Experimental.

La fase de campo se llevó a cabo en el páramo perteneciente a la cooperativa de Cotopilaló, de la provincia de Cotopaxi.

Se buscó zonas donde existe el cultivo de mortiño silvestre en la cual, se georreferencio con el sistema **Global positioning system (GPS)** tomando así las coordenadas “X” y “Y” del piso altitudinal del suelo 1, mostradas en la Tabla 5.Y el segundo piso altitudinal del suelo 2, mostradas en la Tabla 6.

Tabla 5: Coordenadas del suelo 1

Coordenada X	9923074
Coordenada Y	751352
Altitud	3928

Tabla 6: Coordenadas del suelo 2

Coordenada X	9920605
Coordenada Y	751124
Altitud	3673

Figura 6: Mapa del sitio de muestreo



Fuente: (Google Earth)

10.4. Recolección de muestras de la rizófora del mortiño en el área de estudio

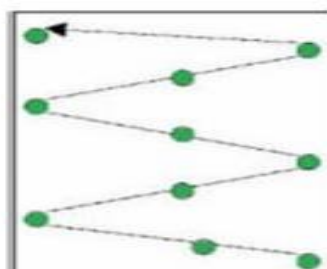
Para que los datos analíticos reportados por el laboratorio sean útiles, es imprescindible realizar un adecuado muestreo de suelos, ya que en esta etapa es donde se define la exactitud de los resultados del análisis de suelos.

10.4.1. Toma de muestras

La muestra se tomó de la zona radicular a una distancia de 20 a 30 centímetros de la base, cada muestra fue tomada en forma de zig-zag como la Figura 7

Una vez determinados los límites para cada unidad en el sitio de estudio, se procede a tomar las submuestras. Para ello se recorre sobre el terreno en forma de zig-zag, tomando submuestras en cada punto donde se cambie la dirección del recorrido. (Tobon y Carrillo, 1995)

Figura 7: Técnica de zig-zag



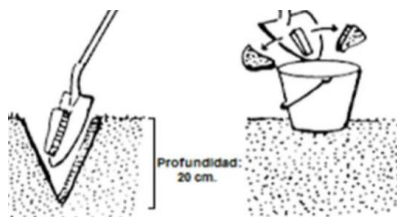
Fuente: (PROJEKT, 2023)

En cada planta a muestrear se retiró los primeros 5 cm de la superficie del suelo, para eliminar restos de fertilizantes químicos, material vegetal, piedras, etc.

Las muestras fueron tomadas con una pala a una profundidad de 20cm del suelo y colocadas en un recipiente.

Con la pala se debe hacer un hueco en forma de "v" y tomar una rodaja de 1,5 cm de suelo (descartando los filos) como se muestra en la Figura 8.

Figura 8: Toma de muestra con pala



Fuente: (PROJEKT, 2023)

10.4.2. Herramientas para el muestreo

Para un correcto muestreo de suelos necesitamos un barreno o pala, balde o recipiente, y fundas ziploc.

10.4.3. Manejo de la muestra

Después de muestrear las 6 plantas, mezclamos bien las sub-muestras. En la funda ziploc colocamos aproximadamente 2 libras de muestra que fueron enviadas al laboratorio para el respectivo análisis.

10.4.4. Empaquetado y etiquetado de muestras

Previo al análisis, las muestras se colocaron en una bolsa ziploc y se identificaron describiendo la ubicación o sección de suelo con las siglas A1, A2, A3 respectivamente, se utilizó códigos como lo muestra en la siguiente tabla.

Tabla 7: Codificación de muestras

Códigos de identificación	
M1-S1	Muestra 1-Suelo 1
M2-S1	Muestra 2-Suelo 1
M3-S1	Muestra 3-Suelo1
M1-S2	Muestra 1-Suelo 2
M2-S2	Muestra 2-Suelo 2
M3-S3	Muestra 3-Suelo 2

Fuente: (Chilla, 2023)

10.4.5. Calidad de muestra

- El volumen requerido de muestra es mínimo 300g cada muestra.
- Todas las muestras fueron cuantificadas e incluidas en los valores obtenidos en las hojas de registro.
- Para tener una adecuada asepsia se utilizó guantes y la desinfección de los materiales a utilizar en la extracción de las muestras.

10.4.6. Almacenamiento

Para esta actividad se utilizó un cooler de espuma flex para trasladar las muestras con la adecuada temperatura hasta que se realizó el ingreso al laboratorio, con su respectiva ficha de ingreso.

10.4.7. Análisis metagenómico bacteriano

Se utilizó la metodología del manual establecido por (Baez, 2019) donde indica que las muestras edáficas deben tomarse de áreas que se encuentre libres de fertilizaciones inorgánicas y labores culturales. Para el análisis de comunidades bacterianas se manejará un descriptor de cebadores (**16SRNA**).

Los resultados del análisis metagenómico permitieron la adquisición de grandes cantidades de datos de una sola muestra y también se identificó aquellos microorganismos que no se pueden aislar mediante placas, como los microorganismos vivos no cultivables.

Además, se obtuvo una identificación precisa de los microorganismos presentes en cada muestra en todos los niveles taxonómicos: filo, clase, orden, familia, género y especie, acompañada en cada caso de su abundancia relativa.

10.4.8. Pasos a seguir para la secuenciación

Tabla 8: Secuenciación

Extracción de ADN
Amplificación PCR1 para el gen rRNA bacteriano 16s
Incorporación de códigos de barras PCR2/Biblioteca 16s
Agrupación de productos PCR2
Limpieza del producto agrupado PCR2 y cuantificación
Secuenciación ilumina MiSeq
Procesamiento de datos, control de calidad y análisis de secuencia
Enfoque basado en referencias como:

Reino
Filo
Clase
Orden
Familia
GENERO
ESPECIE

Fuente: (Saenz, 2018)

10.4.9. Análisis de coordenadas principales

Este diagrama de dispersión muestra un análisis de coordenadas principales (PCoA) de la abundancia relativa normalizada de todas las muestras.

El PCoA mide diferencias en la distribución de clasificaciones taxonómicas entre muestras, hasta un nivel taxonómico fijo.

10.4.10. Evaluación de índices de diversidad (índice de Shannon).

Es importante tener en cuenta que la evaluación de índices de diversidad debe realizarse de manera rigurosa y objetiva para obtener resultados precisos y útiles en la conservación de la biodiversidad.

Para calcular el índice de diversidad de Shannon-Wiener, primero es necesario determinar el número de especies presentes en el área de estudio. Luego, se debe calcular la proporción de individuos que pertenecen a cada especie y utilizar esa información para calcular la proporción de cada especie en la comunidad en general. A partir de estos datos, se puede calcular el índice de Shannon-Wiener utilizando una fórmula específica. Es importante recordar que este índice proporciona información sobre la diversidad de especies en un área determinada y puede ser utilizado para comparar la diversidad en diferentes áreas o a lo largo del tiempo.

La forma utilizada fue la siguiente:

$$H = -\sum P_i * \ln P_i$$

Dónde:

H= Índice de Shannon-Wiener

P_i= Abundancia relativa

Ln= Logaritmo natural

Para determinar la diversidad biológica de las especies bacterianas, nos basaremos en la escala de índice de diversidad biología, que se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9: Escala de diversidad biológica

Escala de la diversidad biológica	
0,5	Baja diversidad de especies
1	
1,5	
2	NORMAL
2,5	
3	
3,5	Alta diversidad de especie
4	
4,5	
5	

Fuente: (Shannon)

10.5.Determinación de comunidades de mayor presencia en relación a las especies (índice de Simpson).

Para poder determinar las comunidades con mayor presencia de especies en cada uno de los pisos altitudinales fue necesario utilizar el índice de diversidad de Simpson, ya que es una medida estadística que utilizamos para evaluar la diversidad biológica existente en una comunidad. Este índice toma en cuenta la riqueza de especies y la abundancia relativa de cada una de ellas. Cuanto mayor sea el índice, mayor será la diversidad de la comunidad.

Este índice fue propuesto originalmente por Edward. H. Simpson, quien muestra las propiedades estadísticas y la formalización matemática del mismo (Simpson, 1949).

Para encontrar el índice de Simpson utilizamos la siguiente formula:

$$D = 1 - \frac{\sum n(n-1)}{N(N-1)}$$

Dónde:

D= Diversidad


n= Subconjunto de cada una de las categorías de una población dada.

N= La población total

Para determinar la dominancia de las especies bacterianas, nos basaremos en la escala de índice de dominancia biológica, que se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10: Escala de índice de dominancia biológica

0	Si el valor se acerca a
	0 tiene baja
	dominancia
	Si el valor se acerca a
	1 tiene alta
	dominancia
1	



Fuente: (Simpson)

10.6. Relación de comunidades entre las dos alturas.

Se puede definir una relación entre dos comunidades bacterianas que se encuentran a diferentes alturas mediante el estudio de la distribución de las especies bacterianas en cada comunidad y la identificación de posibles factores ambientales que puedan estar influyendo en su presencia.

Para ello se llevó a cabo el dendograma de agrupación estadística de las especies de bacterias, mediante la plataforma MEGA sequence, donde se realizó alineamientos de secuencias automáticas para la comparación mediante la búsqueda de patrones de caracteres comunes, para finalmente elaborar el árbol filogenético, en el que se representa las relaciones de parentesco y las distancias entre las mismas, lo que representa la evolución que han tenido a lo largo del tiempo.

10.7. Análisis de suelo

Es importante la identificación de posibles factores físico-químicos que pueden estar influyendo en la presencia de cada comunidad bacteriana en cada uno de estos pisos altitudinales, es por eso que es necesario la realización del análisis de suelo para evaluar lo que afecta en la disposición de la diversidad bacteriana en comparación a estos dos suelos.

Además, al analizar la disponibilidad de nutrientes en cada altura se pudo determinar si estos factores están relacionados con las diferencias observadas en las comunidades bacterianas.

La determinación de las propiedades físico – químicas del suelo se efectuó para cada uno de los cuadrantes seleccionados, en cada uno de los pisos altitudinales. En cada cuadrante, se tomaron submuestras del suelo junto a las plantas de mortiño, hasta formar una muestra madre de 300 gramos por triplicado. Las muestras fueron colocadas en fundas ziploc previamente desinfectadas para luego identificarlas y etiquetarlas para los análisis respectivos de macronutrientes, micronutrientes, materia orgánica, pH y conductividad eléctrica del suelo. (Ponce, 2009)

10.7.1. Parámetros analizados

Tabla 11: Parámetros analizados en la determinación de propiedades físico- químicas del suelo.

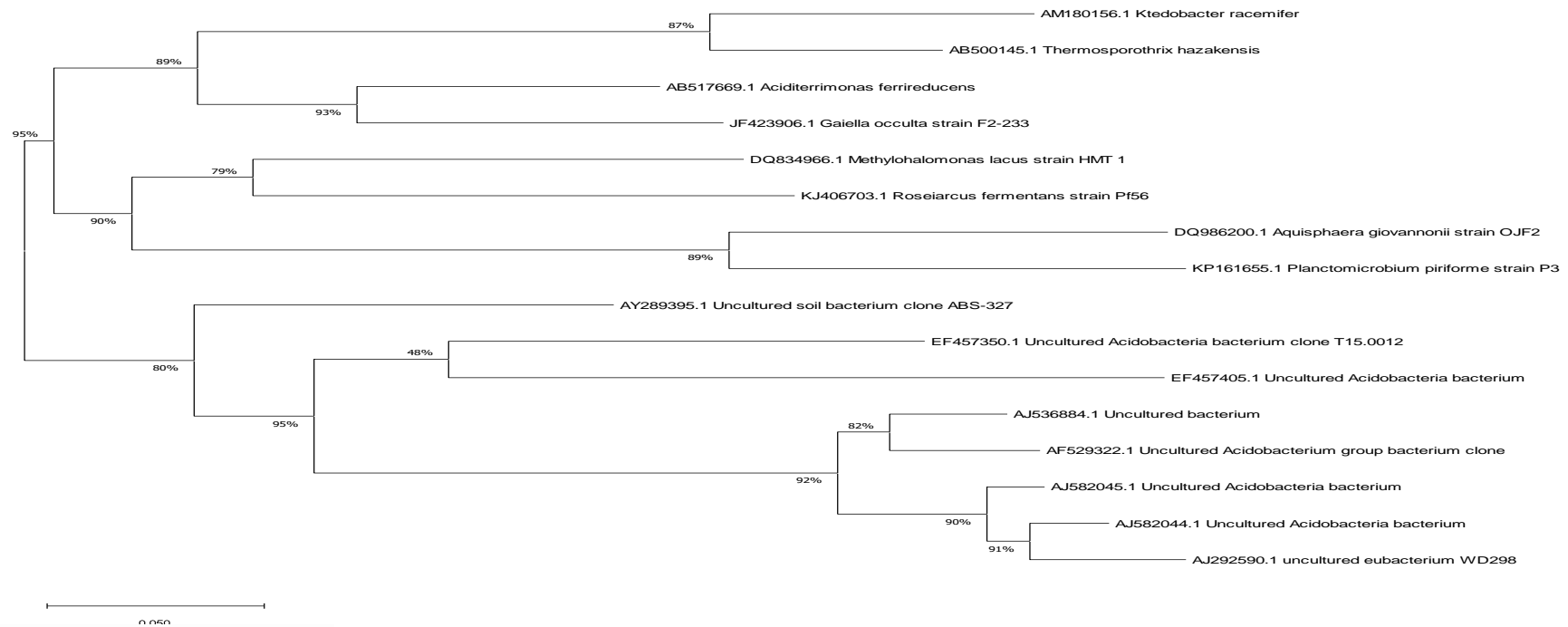
Características del suelo	Macronutrientes	Micronutrientes	Peligro de salinidad
<ul style="list-style-type: none"> • Materia organica • Conductividad (CE) • pH (en H₂O) • Ph (en KCL) 	<ul style="list-style-type: none"> • Nitrato (NO₃-N) • Amonio (NH₄-N) • Fosforo (P) • Potasio (K) • Magnesio (Mg) • Calcio (Ca) • Azufre (SO₄-S) 	<ul style="list-style-type: none"> • Hierro (Fe) • Manganeso (Mn) • Cobre (Cu) • Zinc (Zn) • Boro (B) 	<ul style="list-style-type: none"> • Sodio (Na) • Cloruro (Cl⁻) • Sales totales

Fuente: (Angamarca, 2023)

Se tiene como resultado tres cladogramas diferentes que no se asemejan a las demás especies de bacterias, (Gomez, 2019) menciona que, estas bacterias conllevan un papel importante en el mantenimiento de calidad, salud y fertilidad del suelo ya que están directamente relacionados con la disponibilidad y movilidad de nutrientes, aportando al control de organismos patógenos, que contribuyen a degradar contaminantes orgánicos y favorecen la huella de carbono en el suelo.

SUELO 2

Figura 10: Árbol taxonómico del suelo 2



Fuente: (Angamarca, Chilla, 2023)

Se determinó que, este suelo tiene mayor similitud entre las bacterias existentes en este suelo con un porcentaje del 95% debido a que es un suelo modificado para incrementar la disponibilidad de nutrientes para las plantas.

Los microorganismos convierten las sustancias orgánicas en nutrientes inorgánicos que pueden ser asimilables por las plantas a través de la raíces.

Mejoran la estructura del suelo y las propiedades físicas del mismo.(Corteva,2023)

11.2.Tabla de datos de diversidad (Shannon).

11.2.1. Tabla de especies presentes en el suelo 1

Tabla 12: Especies presentes en el suelo 1

DIVERSIDAD DE ESPECIES			
SUELO 1			
Species	M1-S1	M2-S1	M3-S1
Ktedonobacter Ktedonobacter_racemifer(AM180156)	442	995	900
Thermosporothrix Thermosporothrix_hazakensis(AB500145)	227	536	451
Aquisphaera Aquisphaera_giovannonii(DQ986200)	444	357	279
Subdivision3_genera_incertae_sedis bacterium_Ellin5102(AY234519)	305	296	232
Candidatus_Solibacter Solibacter_usitatus(CP000473)	402	350	307
Aciditerrimonas Aciditerrimonas_ferrireducens(AB517669)	104	334	243
Gaiella Gaiella_occulta(JF423906)	183	379	335
Planctomicrobium Planctomycetaceae_bacterium(KP161655)	159	170	147
Roseiarcus Rhizobiales_bacterium(KJ406703)	358	242	215
Povalibacter Acidibacter_ferrireducens(NR_126260.1)	282	120	82
Zavarzinella Zavarzinella_formosa(AM162406)	110	145	99
Pseudolabrys Pseudolabrys_taiwanensis(DQ062742)	286	192	168
Bradyrhizobium Rhizobium_lupini(KM114861)	237	163	152
Gp1 uncultured_Acidobacteria(EF457396)	102	129	115
Spartobacteria_genera_incertae_sedis	121	197	125
Reyranella Reyranella_soli(JX260424)	173	117	112
Hyphomicrobium Hyphomicrobium_vulgare(AB543807)	137	122	161

Fuente: (Basespace-illumina)

11.2.2. Tabla de especies presentes en el suelo 2

Tabla 13: Diversidad de especies presentes en el suelo 2

DIVERSIDAD DE ESPECIES			
SUELO 2			
Especies	M1-S2	M2-S2	M3-S2
Ktedonobacter			
Ktedonobacter_racemifer(AM180156)	2155	2849	2801
Thermosporothrix_hazakensis(AB500145)	1297	1546	1339
Gp2 uncultured_Acidobacteria(AJ582044)	381	412	506
Gp2 uncultured_Acidobacteria(AJ582045)	553	602	647
Methylohalomonas			
Methylohalomonas_lacus(DQ834966)	701	425	688
Aquisphaera			
Aquisphaera_giovannonii(DQ986200)	208	276	223
Gp2 uncultured_bacterium(AJ536884)	469	518	649
Gp2 uncultured_eubacterium(AJ292590)	175	215	348
Gp7 uncultured_soil(AY289395)	297	309	254
Aciditerrimonas			
Aciditerrimonas_ferrireducens(AB517669)	268	120	143
Gaiella Gaiella_occulta(JF423906)	153	62	87
Planctomicrobium			
Planctomycetaceae_bacterium(KP161655)	180	190	175
Gp6 uncultured_Acidobacteria(EF457350)	305	212	206
Gp2 uncultured_Acidobacteria(AF529322)	239	106	596
Roseiarcus Rhizobiales_bacterium(KJ406703)	32	18	20
Gp4 uncultured_Acidobacteria(EF457405)	115	175	418

Fuente: (Basespace-illumina)

Tabla 14: Índice de diversidad según Shannon y Simpson en el suelo 1

SUELO 1				
Species	N DE INDIVIDUO	PI	PI*LN(PI)	PI^2
Ktedonobacter Ktedonobacter_racemifer(AM180156)	442	0.109	-0.241	0.012
Thermosporothrix Thermosporothrix_hazakensis(AB500145)	227	0.056	-0.161	0.003
Aquisphaera Aquisphaera_giovannonii(DQ986200)	444	0.109	-0.242	0.012
Subdivision3_genera_incertae_sedis bacterium_Ellin5102(AY234519)	305	0.075	-0.194	0.006
Candidatus_Solibacter Solibacter_usitatus(CP000473)	402	0.099	-0.229	0.010
Aciditerrimonas Aciditerrimonas_ferrireducens(AB517669)	104	0.026	-0.094	0.001
Gaiella Gaiella_occulta(JF423906)	183	0.045	-0.139	0.002
Planctomicrobium Planctomycetaceae_bacterium(KP161655)	159	0.039	-0.127	0.002
Roseiarcus Rhizobiales_bacterium(KJ406703)	358	0.088	-0.214	0.008
Povalibacter Acidibacter_ferrireducens(NR_126260.1)	282	0.069	-0.185	0.005
Zavarzinella Zavarzinella_formosa(AM162406)	110	0.027	-0.098	0.001
Pseudolabrys Pseudolabrys_taiwanensis(DQ062742)	286	0.070	-0.187	0.005
Bradyrhizobium Rhizobium_lupini(KM114861)	237	0.058	-0.166	0.003
Gp1 uncultured_Acidobacteria(EF457396)	102	0.025	-0.092	0.001
Spartobacteria_genera_incertae_sedis unidentified_bacterium(X64381)	121	0.030	-0.104	0.001
Reyranella Reyranella_solii(JX260424)	173	0.042	-0.134	0.002
Hyphomicrobium Hyphomicrobium_vulgare(AB543807)	137	0.034	-0.114	0.001
TOTAL	4072	1	-2.719	0.072
			-1	
		Indice de Shannon	2.719	
		Indice de Simpson		0.928

Fuente: (Chilla, 2023)

El índice de diversidad según Shannon, en la Tabla 14, se expresa con un valor de 2.71, lo que denota la existencia de un ecosistema con una diversidad relativamente normal, establecido así por (Shannon), quien indica que el índice formula la uniformidad de los valores de importancia por medio de todas las especies de la muestra. Es decir, se puede tomar los valores mínimos y máximos, valores que van de 0.5 a 1.5 con una diversidad relativamente baja, de 2 a 3 con un ecosistema de diversidad normal, y de 3.5 a 5 con un ecosistema altamente diverso.

El índice de dominancia según Simpson, en la Tabla 14, determina una dominancia del 0.928, que indica la existencia de una alta dominancia, mediante la escala establecida por (Simpson), donde nos indica que cuanto más se acerca el valor de este índice a la unidad, existe una mayor posibilidad de dominancia de una especie y de una población, y cuanto más se acerque el valor de este índice a cero menor, es la dominancia.

Tabla 15: Índice de diversidad según Shannon y Simpson en el suelo 2

SUELO 2				
Especies	N DE INDIVIDUO	PI	PI*LN(PI)	PI^2
Ktedonobacter Ktedonobacter_racemifer(AM180156)	2602	0.316	-0.364	0.100
Thermosporothrix Thermosporothrix_hazakensis(AB500145)	1394	0.17	-0.301	0.029
Gp2 uncultured_Acidobacteria(AJ582044)	433	0.053	-0.155	0.003
Gp2 uncultured_Acidobacteria(AJ582045)	601	0.073	-0.191	0.005
Methylohalomonas Methylohalomonas_lacus(DQ834966)	605	0.074	-0.192	0.005
Aquisphaera Aquisphaera_giovannonii(DQ986200)	236	0.029	-0.102	0.001
Gp2 uncultured_bacterium(AJ536884)	545	0.066	-0.180	0.004
Gp2 uncultured_eubacterium(AJ292590)	246	0.03	-0.105	0.001
Gp7 uncultured_soil(AY289395)	287	0.035	-0.117	0.001
Aciditerrimonas Aciditerrimonas_ferrireducens(AB517669)	177	0.022	-0.083	0.000
Gaiella Gaiella_occulta(JF423906)	101	0.012	-0.054	0.000
Planctomicrobium Planctomycetaceae_bacterium(KP161655)	182	0.022	-0.084	0.000
Gp6 uncultured_Acidobacteria(EF457350)	241	0.029	-0.103	0.001
Gp2 uncultured_Acidobacteria(AF529322)	314	0.038	-0.125	0.001
Roseiarcus Rhizobiales_bacterium(KJ406703)	23	0.003	-0.016	0.000
Gp4 uncultured_Acidobacteria(EF457405)	236	0.029	-0.102	0.001
TOTAL	8223	1	-2.275	0.154
			-1	
			Índice de Shannon	2.275
			Índice de Simpson	0.846

Autor (Angamarca, Chilla)

Según el índice de Shannon, en la Tabla 15, indica un valor de 2.275, siendo un valor promedio de las 3 muestras obtenidas en el suelo 2, lo que indica que tenemos un ecosistema normal de diversidad bacteriana, entrando en la escala normal de diversidad, establecida por Claude Elwood Shannon (1916-2001).

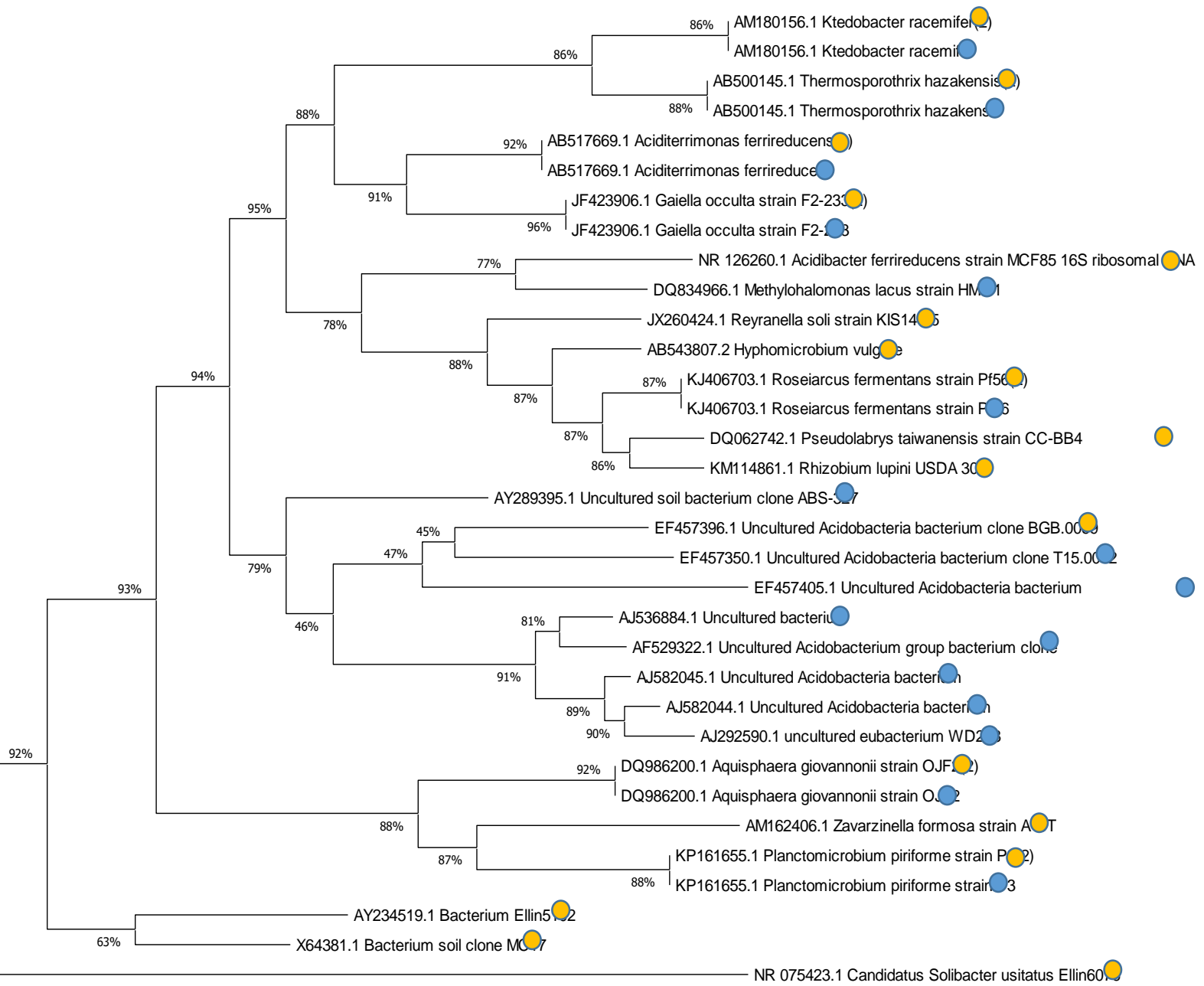
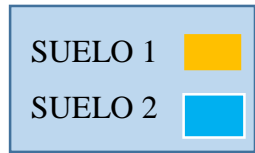
Mediante el índice de Simpson determinamos que hay una menor dominancia en el suelo 2, con un valor de 0.846, siendo un valor que le aleja más de la unidad, Edward H. Simpson, en su escala de dominancia nos dice que cuanto más cercano sea el valor del índice a uno, más probable es que la especie y la población tengan un grado de dominancia, y cuanto más cercano sea el valor del índice a cero, menor será el grado de dominancia. Es por eso que uno de los principales problemas del monocultivo y la manipulación de los páramos es la pérdida de diversidad biológica.

11.3.Dendograma de agrupación de especies del suelo 1 y 2

SUELO 1 Y 2

Figura 11: Árbol taxonómico/ Dendograma suelo 1 y 2

Dendograma de especies del suelo 1 y 2



Se identifico tres principales bacterias que son dominantes en el suelo 1, a una altura de 3928 msnm las cuales son:

- Candidatus solibacter con 402 bacterias.
- Bacterium soil con 121 bacterias.
- Bacterium ellin con 305 bacterias.

Estas bacterias son principalmente de un suelo que no a sido manipulado y que consta de una amplia diversidad de bacterias, a diferencia del suelo 2, con un altitud de 3673msnm, en este piso tenemos una similitud de dominancia ente la bacteria Acidobacteria bacterium, ya que es la encargada de codificar enzimas que liberan sulfito de los organosulfonatos, lo que sugiere que los compuestos orgánicos de azufre pueden servir como fuentes de energía complementarias (Kuramae, 2019).

11.4. Tabla de datos de las características del suelo, micro y macro nutrientes.

Tabla 16: Análisis de suelo

Análisis		Unidad	Método de extracción	Niveles Óptimos	Resultado suelo 1	Resultado suelo 2
Características del suelo	Materia Orgánica	%	-	5,0-15,0	10,6	4,8
	Conductividad Eléctrica	mS/cm	Vol.1:2	0,2- 0,4	0,04	0,09
	pH	-	Vol.1:3	4,0-5,0	5,0	4,6
Macronutrientes	Nitrato	mg/kg	Extracto de agua	-	4,9	10,7
	Amonio	mg/kg	NaCl 0,05 M	-	10,2	5,1
	Fósforo	mg/kg	NaCl 0,05 M	15-25	13,6	8,7
	Potasio	mg/kg	NaCl 0,05 M	120-240	54	18
	Magnesio	mg/kg	NaCl 0,05 M	45-90	107	59,5
	Calcio	mg/kg	NaCl 0,05 M	300-800	251	198
	Azufre	mg/kg	Extracto de agua	10,0-15,0	2,5	4,8
Micronutrientes	Hierro	mg/kg	OTPA/CaCl ₂	40-120	227	158
	Manganeso	mg/kg	OTPA/CaCl ₃	6,0-30	56	9,7
	Cobre	mg/kg	OTPA/CaCl ₄	1,0-4,0	3	3,2
	Zinc	mg/kg	OTPA/CaCl ₅	1,2-6,0	9,6	1,9

	Boro	mg/kg	Extracto de agua	0,15-0,60	0,15	0,26
Peligro de salinidad	Sodio	mg/kg	Extracto de agua	<140	3	4,4
	Cloruro	mg/kg	Extracto de agua	<210	6,5	4,5
	Sales totales	mg/kg	Extracto de agua	<2000	35	70,8

En la Tabla 16, establece que el suelo 1, es uno de los suelos con características edafoclimáticas óptimas, ya que contamos con una cantidad de materia orgánica del 10.6% a comparación del suelo 2 que su materia orgánica es mínima, con un valor del 4.8% por ende existe baja diversidad de comunidades bacterianas en el suelo 2, debido a que, en su mayoría, las bacterias como la *Candidatus Solibacter*, según (Nebot, 2023) descomponen la materia orgánica liberando nutrientes. De esta manera crean las condiciones para que el cultivo de mortiño se desarrolle.

En el análisis de suelo se obtuvo valores de pH de 5 en el suelo 1 y 4.6 en el suelo 2, lo que indica que están con valores de un suelo ácido ya que, el cultivo del mortiño silvestre es una especie adaptada a suelos ácidos del páramo.

Los macro y micronutrientes pueden influir en la composición y estructura de las comunidades bacterianas de la rizosfera, ya que diversas bacterias son encargadas de codificar enzimas, por ejemplo, la bacteria *Acidobacteria*, es la encargada de codificar enzimas que liberan sulfatos de los organosulfonados, lo que sugiere que los compuestos orgánicos de azufre, pueden servir como fuentes de energías complementarias.

12. IMPACTOS

12.1. Impactos Ambientales

Con la siguiente investigación realizada se determinó que es muy influyente cuando un agricultor sobrepasa las fronteras agrícolas, ya que causan un deterioro y erosión de los páramos andinos dando como resultado la disminución de bacterias benéficas para la producción del mortiño silvestre.

13. CONCLUSIONES

- Se identificaron 1473 especies de bacterias relacionadas a la rizosfera del cultivo de mortiño en la cooperativa de Cotopilalo de Toacaso; de las cuales se consideraron 17 especies principales por su representatividad, el número total de bacterias en el suelo uno (piso altitudinal 3928 msnm) fue de 4072 especies, con un índice de diversidad de 2.7 de Shannon y un índice de dominancia de 0.92 de Simpson. En el suelo dos (piso altitudinal de 3626 msnm) se identificaron 8223 bacterias, con un índice de diversidad del 2,27 y de dominancia del 0,85.
- Se agruparon 17 especies de cada piso altitudinal siendo *Candidatus solibacter*, *Bacterium soil* y *Bacterium ellin* las tres principales bacterias del suelo uno. El suelo dos contiene 232 especies de *Acidobacteria bacterium* debido a la diversidad de especies cultivadas con el uso de fertilizantes químicos.

14. RECOMENDACIONES

- Continuar con la investigación del análisis meta genómico en la rizósfera del cultivo de mortiño y otros cultivos, considerando otros pisos altitudinales.
- Realizar otras investigaciones relacionadas al análisis meta genómico de la filósfera del cultivo de mortiño.

15. BIBLIOGRAFIA

- MONROY CUBIDES , O. M. (20 de Agosto de 2009).
- Angamarca, C. (2023).
- Angamarca, C. (2023).
- Baez. (2019). *Análisis metagenómico bacteriano* .
- (s.f.). Basespace-illumina.
- Basespace-illumina. (s.f.).
- Calvo y ZUñiga, R. (2005). *Diversidad microbiana del suelo*.
- Cortéz López. (2020). *Analisis Metagenómico*.
- Diaz, F. (2005). *Páramos del Ecuador*.
- EIA, U. (2006).
- Ferrera, A. (2001). *Pérdida de la base nutrimental en los suelos* .
- Freire. (2004). En *La Granueva Jers*.
- Freire. (2015).
- Giné y Galarza. (2001). *Expansión de actividades agrícolas*.
- (2020). Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Toacaso.
- Gomez, A. (2019). *Bacterias en los páramos*.
- Haila, M. (1996). *Analisis biodiversidad*.
- Kuramae, E. (2019). *Science Direct*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/acidobacterium>
- Llambí. (2012).
- Llambí. (2012).
- Luteyn. (2012).
- MAGAP. (1988).
- Martinez. (2017). *Régimen de humedad del suelo* .

- Morales. (2011). *Generalidades del mortiño silvestre*.
- Nebot, J. M. (27 de Marzo de 2023). *Salud y Belleza*.
- Ponce. (2009). *Analisis de suelos*.
- PROJEKT, A. (2023). Quito.
- Saenz. (2018).
- Sanchez. (2018).
- Sequence, B. (2023).
- Shannon, C. (s.f.).
- Simpson, E. (s.f.). *Indice de dominancia*.
- Tobon y Carrillo. (1995). *Método de zig- zag*.
- Vargas Ortega, G. (2001). *Características de la rizòsfera*.
- Vargas Ortega, G. F. (25 de Marzo de 2021). *Escuela superior politecnica de Chimborazo*.
Obtenido de <http://dspace.esoch.edu.ec/handle/123456789/15824>
- Vasco. (2009). *Fruto de mortiño*.
- Ponce, J. J. G. (2009). *Evaluación de tres sistemas silvopastoriles para la gestión sostenible de los recursos naturales de la microcuenca del río Chimborazo*. INIAP Archivo Historico.
- de Lourdes Torres, M., Trujillo, D., & Arahana, V. S. (2010). Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 2(2).
- Cortés-López, N. G., Ordóñez-Baquera, P. L., & Domínguez-Viveros, J. (2020). Herramientas moleculares utilizadas para el análisis metagenómico. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(4), 1150-1173.
- Bonilla-Rosso, G., Souza, V., & Eguiarte, L. E. (2008). Metagenómica, genómica y ecología molecular: la nueva ecología en el bicentenario de Darwin. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 11(1), 41-51.
- Cueto, O. G., Coronel, C. E. I., & Suárez, M. H. (2009). Análisis de los factores que provocan compactación del suelo agrícola. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 18(2), 57-63.

- Pérez-Peláez, N., Peña-Varón, M., & Sanabria, J. S. J. (2011). Comunidades bacterianas involucradas en el ciclo del nitrógeno en humedales construidos. *Ingeniería y competitividad*, 13(2), 83-92.
- Astorga, B., Barraza, C., Casals, J. M., Cisterna, M. J., Mena, D., Morales, F., ... & Moncada, G. (2015). Avances en el estudio de la diversidad bacteriana oral asociada a caries dental mediante el estudio genómico. *International journal of odontostomatology*, 9(3), 349-356.
- Arcos-Torres, J. F., Erazo-Sandoval, N. S., & Quishpe-Quishpi, F. E. (2022). Caracterización de Suelos Asociados a la Rizosfera de Mortiño (*Vaccinium Floribundum* Kunth) en los Páramos de Ganquis y Cubillín de la Provincia de Chimborazo. *Domino de las Ciencias*, 8(1), 482-502.
- Acuña, A., Pucci, G., Morales, M. J., & Pucci, O. (2010). Biodegradación de petróleo y sus derivados por la comunidad bacteriana en un suelo de la Patagonia Argentina. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 30(1), 29-36.
- Bouza, C. N., & Covarrubias, D. (2005). Estimación del índice de diversidad de Simpson en m sitios de muestreo. *Investigación operacional*, 26(2).
- Pla, L. (2006). Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. *Interciencia*, 31(8), 583-590.
- Somarriba, E. (1999). Diversidad Shannon. *Agroforestería en las Américas*, 6(23).
- Soler, P., Berroterán, J., Gil, J., & Acosta, R. (2012). Índice valor de importancia, diversidad y similitud florística de especies leñosas en tres ecosistemas de los llanos centrales de Venezuela. *Agronomía tropical*, 62(1-4), 025-038.
- Morocho, C. C., & Chuncho, G. (2019). Páramos del Ecuador, importancia y afectaciones: Una revisión. *Bosques Latitud Cero*, 9(2), 71-83.

16. ANEXOS

Anexo 1: Aval del Traductor

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: **“ANÁLISIS DE COMUNIDADES BACTERIANAS ASOCIADO A LA RIZÓSFERA DEL MORTIÑO (*VACCINIUM FLORIBUNDUM*) EN LA COOPERATIVA COTOPILALO, PARROQUIA TOACASO, COTOPAXI 2023”** presentado por: **Angamarca Colala Morayma Coley y Chilla Erazo Jeniffer Paulina** egresadas de la Carrera de: **Ingeniería en Agronomía**, perteneciente a la **Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**, lo realizaron 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 las peticionarias hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

Latacunga, Julio del 2023.

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Marco Paúl Beltrán Semblantes', written over a blue horizontal line.

Mg. Marco Paúl Beltrán Semblantes

CENTRO
DE IDIOMAS

DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC

CC: 0502666514

Anexo 2: Análisis del suelo

RESULTADOS

Código Agrarprojekt: LEY-060323

Pág 2/2

INFORMACIÓN DE LAS MUESTRAS		
Información Adicional:	Zona Cotopilalo	
Tipo de Muestra:	Suelo	
Cultivo:	Mortiño (silvestre, <i>Vaccinium floribundum</i>)	
Número de Muestra:	# 1	# 2
Información Proporcionalada por el Cliente:	Muestra 1, Suelo 1	Muestra 2, Suelo 2

Contenido de macro- y microelementos en mg / kg de suelo seco

Análisis	Unidad	*Método de Extracción	*Niveles Óptimos para Arándano (<i>Vaccinium myrtillus</i>) - Variedades mejoradas y manejo intensivo	Resultado	Resultado	
Características del Suelo	Materia Orgánica	%	-	5 - 15	10,6	4,8
	Conductividad (CE)	mS/cm	Vol. 1:2	0,2 - 0,4	0,04	0,09
	pH (en H ₂ O)	-	Vol. 1:2	-	5,8	5,3
	pH (en KCl)	-	Vol. 1:2	4,0 - 5,0	5,0	4,6
Macronutrientes	Nitrato (NO ₃ -N)	mg/kg	Extracto Agua	-	4,9	10,7
	Amonio (NH ₄ -N)	mg/kg	NaCl 0.05 M	-	10,2	5,1
	(NO ₃ +NH ₄)-N	mg/kg	-	25 - 40	15,1	15,8
	Fósforo (P)	mg/kg	NaHCO ₃ 0.5M	15 - 25	13,6	8,7
	Potasio (K)	mg/kg	NaCl 0.05 M	120 - 240	54,0	18,0
	Magnesio (Mg)	mg/kg	NaCl 0.05 M	45 - 90	107	59,5
	Calcio (Ca)	mg/kg	NaCl 0.05 M	300 - 800	251	198
Micronutrientes	Azufre (SO ₄ -S)	mg/kg	Extracto Agua	10 - 15	2,5	4,8
	Hierro (Fe)	mg/kg	DTPA/CaCl ₂	40 - 120	227	158
	Manganeso (Mn)	mg/kg	DTPA/CaCl ₂	6 - 30	56,0	9,7
	Cobre (Cu)	mg/kg	DTPA/CaCl ₂	1,0 - 4,0	3,0	3,2
	Zinc (Zn)	mg/kg	DTPA/CaCl ₂	1,2 - 6,0	9,6	1,9
Peligro de Salinidad	Boro (B)	mg/kg	Extracto Agua	0,15 - 0,60	0,15	0,26
	Sodio (Na)	mg/kg	Extracto Agua	< 140	3,0	4,4
	Cloruro (Cl ⁻)	mg/kg	Extracto Agua	< 210	6,5	4,5
Sales Totales	mg/kg	Extracto Agua	< 2000	35,0	70,8	

* Fuente: Soil Science Society of America Inc. (Ed.). 2001. Methods of Soil Analysis. 1390 pp.

Fuente: (Angamarca, Chilla, 2023)

Anexo 3: Delimitación del lugar para la toma de muestras suelo 1



Fuente: (Angamarca, Chilla, 2023)

Anexo 4: Coordenadas GPS de cada piso altitudinal



Fuente: (Angamarca, Chilla, 2023)

Anexo 5: Recolección de muestras



Fuente:(Angamarca, Chilla, 2023)

Anexo 6: Preparación de las muestras.



Fuente: (Angamarca, Chilla, 2023)

Anexo 7: Etiquetado de muestras



Fuente: (Angamarca, Chilla, 2023)

Anexo 8: Análisis de suelo.

**AGRARPROJEKT S.A.**

DIRECCION: URBANIZACIÓN EL CONDADO CALLE V#941 Y AVENIDA A
 TELEFONO: 2490575
 Email: contabilidad@agrarpjekt.com

Obligado a llevar contabilidad: SI

Agente de Retención No.: NAC-DNCRASC20-00000001

RUC: 1791409930001

FACTURA

No. 001-002-000006638

NÚMERO DE AUTORIZACIÓN

0703202301179140993000120010020000066380000663816

FECHA Y HORA AUTORIZACIÓN

07/03/2023 14:42

AMBIENTE PRODUCCIÓN

EMISIÓN NORMAL

CLAVE DE ACCESO



0703202301179140993000120010020000066380000663816

Razón Social: COLEY ANGAMARCA

Fecha Emisión: 07/03/2023

RUC/CI: 1723944847

Código	Cantidad	Descripción	Precio Unitario	Precio Total
100001	2	ANÁLISIS DE SUELO MÉTODO TRADICIONAL (PH, CE, MO, MACRO Y MICRONUTRIENTES) CULTIVO MORTIÑO SILVESTRE, MUESTRAS DEL 06-03-2023 (INF379)	\$59.00	\$118.00

FORMA DE PAGO

OTROS CON UTILIZACION DEL SISTEMA FINANCIERO \$132.16

INFORMACION ADICIONAL

Dirección: QUITUMBE, QUITO

Teléfono: 0984594765

SUBTOTAL	\$118.00
DESCUENTO:	\$0.00
SUBTOTAL 12%:	\$118.00
SUBTOTAL 0%:	\$0.00
SUBTOTAL No objeto de IVA:	0.00
SUBTOTAL SIN IMPUESTOS:	\$118.00
SUBTOTAL Exento de IVA:	0.00
IVA 12%	\$14.16
VALOR TOTAL	\$132.16

TERMINOS Y CONDICIONES

- La factura deberá ser cancelada de forma inmediata
- Para realizar depósito o transferencia los datos son:
AGRARPROJEKT S.A, Cta. Cte. # 0205200253-1, Produbanco, Ruc 1791409930001.
- Las retenciones se recibirán dentro de los 5 días que dispone la ley, enviar al correo contabilidad@agrarpjekt.com

Fuente: (PROJEKT, 2023)

Anexo 9: Análisis meta genómico



Emisor: BIOSEQUENCE S.A.S.
RUC: 1793081606001
Matriz: AV CHECOSLOVAQUIA E10-195 Y ELOY ALFARO
Correo: biosequencepagos.ec@gmail.com
Teléfono: 0995630618
Obligado a llevar contabilidad: SI

FACTURA**No.001-001-000000114****Número de Autorización:**

2903202301179308160600120010010000001143471189211

Fecha y hora de Autorización:

29/03/2023 16:43:50

Ambiente: PRODUCCION**Emisión:** NORMAL**Clave de Acceso:**

2903202301179308160600120010010000001143471189211

Razón Social: ANGAMARCA COLALA MORAYMA COLEY**RUC/CI:** 1723944847**Dirección:** QUITO**Teléfono:** 0985617986**Fecha Emisión:** 29/03/2023**Correo:**

coley.angamarca@hotmail.com

Código Principal	Cantidad	Descripción	Detalles Adicionales	Precio Unitario	Descuento	Total
EXT-AN-01	6.00	Extraccion de ADN		15.0000	\$0.00	\$90.00
AMP-NGSD-024	6.00	Secuenciacion NGS Metagenómica Amplicon		73.5983	\$0.00	\$441.59

Información Adicional

Descripción PROFORMA 2048-23

Formas de pago

Otros con Utilización del Sistema Financiero	\$595.38	0 días
--	----------	--------

Subtotal Sin Impuestos:	\$531.59
Subtotal 12%:	\$531.59
Subtotal 0%:	\$0.00
Subtotal No Objeto IVA:	\$0.00
Descuentos:	\$0.00
ICE:	\$0.00
IVA 12%:	\$63.79
Servicio %:	\$0.00
Valor Total:	\$595.38

Fuente: (Sequence, 2023)

Anexo 10: Índice de Shannon y Simpson en suelo 1 y 2

SUELO 2											
M1-S2				M2-S2				M3-S2			
NUMERO DE INDIVIDUOS (N)	Pi	Pi lnPi	Pi^2	NUMERO DE INDIVIDUOS (N)	Pi	Pi lnPi	Pi^2	NUMERO DE INDIVIDUOS (N)	Pi	Pi lnPi	Pi^2
2155	0,29	-0,36	0,08	2849	0,35	-0,37	0,13	2801	0,31	-0,36	0,09
1297	0,17	-0,30	0,03	1546	0,19	-0,32	0,04	1339	0,15	-0,28	0,02
381	0,05	-0,15	0,00	412	0,05	-0,15	0,00	506	0,06	-0,16	0,00
553	0,07	-0,19	0,01	602	0,07	-0,19	0,01	647	0,07	-0,19	0,01
701	0,09	-0,22	0,01	425	0,05	-0,16	0,00	688	0,08	-0,20	0,01
208	0,03	-0,10	0,00	276	0,03	-0,12	0,00	223	0,02	-0,09	0,00
469	0,06	-0,17	0,00	518	0,06	-0,18	0,00	649	0,07	-0,19	0,01
175	0,02	-0,09	0,00	215	0,03	-0,10	0,00	348	0,04	-0,13	0,00
297	0,04	-0,13	0,00	309	0,04	-0,13	0,00	254	0,03	-0,10	0,00
268	0,04	-0,12	0,00	120	0,01	-0,06	0,00	143	0,02	-0,07	0,00
153	0,02	-0,08	0,00	62	0,01	-0,04	0,00	87	0,01	-0,04	0,00
180	0,02	-0,09	0,00	190	0,02	-0,09	0,00	175	0,02	-0,08	0,00
305	0,04	-0,13	0,00	212	0,03	-0,10	0,00	206	0,02	-0,09	0,00
239	0,03	-0,11	0,00	106	0,01	-0,06	0,00	596	0,07	-0,18	0,00
32	0,00	-0,02	0,00	18	0,00	-0,01	0,00	20	0,00	-0,01	0,00
115	0,02	-0,06	0,00	175	0,02	-0,08	0,00	418	0,05	-0,14	0,00
7528	1	-2,33	0,140	8035	1	-2,14	0,18	9100	1	-2,30	0,15
		-1				-1				-1	
Índice de Shannon		2,33		Índice de Shannon		2,14		Índice de Shannon		2,30	

Autor: (Angamarca, Chilla)