



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

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“CARACTERIZACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS EN EL CULTIVO DE ROSAS (*Rosa Sp.*) VARIEDAD MONDIAL®, A LOS 2900, 3000, 3100 msnm EN COTOPAXI Y PICHINCHA”

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniero Agrónomo.

Autor:

Quinatoa Chasi Kevin Ricardo

Tutor:

Chasi Vizquete Wilman Paolo

Cotutor:

Boada Cahueñas Eliana Amparito

LATACUNGA – ECUADOR

Febrero 2024

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Kevin Ricardo Quinatoa Chasi, con cédula de ciudadanía No. 0504428079, declaro ser autor del presente Proyecto de Investigación: **“CARACTERIZACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS EN EL CULTIVO DE ROSAS (*Rosa Sp.*) VARIEDAD MONDIAL®, A LOS 2900, 3000, 3100 msnm EN COTOPAXI Y PICHINCHA”**, siendo el Ingeniero Mg. Wilman Paolo Chasi Vizuete, 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 como autor.

Latacunga, 13 de febrero del 2024



Kevin Ricardo Quinatoa Chasi
CC: 0504428079
ESTUDIANTE

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 **QUINATOA CHASI KEVIN RICARDO**, identificado con cédula de ciudadanía **0504428079** de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL 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. - **EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Agronomía, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Caracterización de consorcios bacterianos en el cultivo de rosas (*Rosa sp.*) variedad Mondial®, a los 2900, 3000, 3100 msnm en Cotopaxi Y Pichincha”, 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: Octubre 2019 - Marzo 2020

Finalización de la carrera: Octubre 2023 – Marzo 2024

Aprobación en Consejo Directivo: 25 de mayo del 2023

Tutor: Ingeniero Mg. Wilman Paolo Chasi Vizueté

Tema: “Caracterización de consorcios bacterianos en el cultivo de rosas (*Rosa sp.*) variedad Mondial®, a los 2900, 3000, 3100 msnm en Cotopaxi Y Pichincha”

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

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

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

1. 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.
2. La publicación del trabajo de grado.
3. La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
4. La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

5. Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

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

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

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

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

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en 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 13 días del mes de febrero del 2024.


Kevin Ricardo Quinatoa Chasi
EL CEDENTE

Dra. Idalia Pacheco Tigselema
LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“CARACTERIZACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS EN EL CULTIVO DE ROSAS (*Rosa Sp.*) VARIEDAD MONDIAL®, A LOS 2900, 3000, 3100 msnm EN COTOPAXI Y PICHINCHA”, de Quinatoa Chasi Kevin Ricardo, 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, 13 de febrero del 2024

Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuite, Mg.
C.C: 0502409725
DOCENTE TUTOR

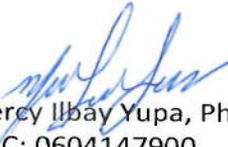
AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

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, el postulante: Albán Camacho Mónica Alexandra, con el título de Proyecto de Investigación: “**CARACTERIZACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS EN EL CULTIVO DE ROSAS (*Rosa Sp.*) VARIEDAD MONDIAL®, A LOS 2900, 3000, 3100 msnm EN COTOPAXI Y PICHINCHA**”, 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 grabar los archivos correspondientes en un CD, según la normativa institucional.

Latacunga, 13 de febrero del 2024


Ing. Francisco Herman Chancusig, Mg.
C.C: 0501883920
LECTOR 1 (PRESIDENTE)


Ing. Mercy Ibay Yupa, Ph.D.
C.C: 0604147900
LECTOR 2 (MIEMBRO)


Ing. Clever Castillo de la Guerra, MSc.
C.C: 0501715494
LECTOR 3 (MIEMBRO)

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento a todas las personas que fueron parte y soporte de esta investigación ya sea en lo académico y moral, a mi cotutora la Ingeniera Eliana Boada que me impulso a la realización de este proyecto de investigación, que poco a poco lo tome mucho aprecio y emoción a la incertidumbre que se tiene al realizar una investigación; A la ingeniera Mercy Ilbay con su conocimiento y consejos para el análisis y discusión de resultados, de la misma manera a su enseñanza para la redacción, elaboración de las discusiones y búsqueda de fuentes; Al ingeniero Paolo Chasi por el acogimiento y apoyo en el proceso de titulación; Al ingeniero Clever Castillo como al Ingeniero Fransisco Chancusig que se presentaron prestos a ser partícipes en las dudas que presentaba en el transcurso de mi investigación. Una mención especial a la ingeniera Tanya Llanos que mostró su apoyo moral a las incertidumbres y problemas que se me fueron presentados en este periodo, de la misma manera a la confianza prestada a cualquier suceso o situación.

Sin hacer de menos a mi familia, en especial a mi Mami, Elsa Quinatoa por su preocupación y apoyo incondicional, con su atención y preguntas frecuentes que me incentivaron y me fortalecieron para seguir en el proceso y no decaer, teniendo siempre presente mi meta y objetivo.

Quinatoa Chasi Kevin Ricardo

DEDICATORIA

A mi Madre Elsa Quinatoa, que se dedicó por completo a mi educación en lo académico y personal, que a pesar de ser madre soltera y pasar por retos y adversidades, me ofreció la mejor herencia que se puede dar a un hijo, el respeto y amor incondicional a un ser querido y amado, una hoja no es suficiente para describir la admiración y asombro que tengo hacia mi madre que a pesar de no tener riqueza en abundancia buscaba la manera que a mí nunca me falte nada, esto sin importar que tuviera que trabajar semanas completas en un trabajo arduo y sin descanso. A estas instancias me doy cuenta el enorme esfuerzo y dedicación que me dio mi madre, a pesar de que cada vez su salud se vaya deteriorando. Por esta y muchas más razones, mi presente y futuros trabajos serán dedicados a la persona que me dio la vida sin importar las críticas y divulgaciones, porque por ella me puedo considerar una persona dichosa y afortunada.

Kevin

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “CARACTERIZACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS EN EL CULTIVO DE ROSAS (*Rosa Sp.*) VARIEDAD MONDIAL®, A LOS 2900, 3000, 3100 msnm EN COTOPAXI Y PICHINCHA”.

Autor:
Quinatoa Chasi Kevin Ricardo

RESUMEN

Los microorganismos son de vital importancia para los ecosistemas, ya que de ellos depende la consecución de los ciclos de los nutrientes y relaciones de mutualismo y antagonismo en todos los sistemas productivos y naturales.

La presente investigación tuvo como objetivo el caracterizar consorcios bacterianos presentes en rosas de corte variedad Mondial®, en tres diferentes pisos altitudinales. Para el cumplimiento de esta se ejecutó en dos fases, la primera consistió en recolectar muestras de suelo, hojas y flores del cultivo antes mencionado en las parroquias de Guaytacama (Cotopaxi), Tabacundo (Pichincha) y Mulaló (Cotopaxi), las mismas que se encuentran a un piso altitudinal de 2900, 3000 y 3100 msnm respectivamente, de las cuales en la segunda fase se aisló en un medio de cultivo no selectivo donde se obtuvo colonias bacterianas presentes en cada una de ellas, posteriormente se inoculó estas en dos medios selectivos (Cetrimide y MacConkey) y en un medio general Mueller Hinton cada uno con tres repeticiones. Con el crecimiento de los consorcios bacterianos en los medios se efectuó la caracterización morfológica, por percepción óptica, de tres personas, evaluando los siguientes parámetros: forma, elevación, margen, apariencia, propiedad óptica, pigmentación y textura, también se realizó la Tinción Gram para su Identificación.

Con los datos obtenidos, se determinó que los consorcios bacterianos para suelo, hojas y flores a los 2900 msnm presentaron una forma irregular (56%), apariencia brillante (100%), propiedades ópticas opacas (89%), con pigmentación (78%) y textura lisa (56%). A los 3000 msnm se mantienen las características de forma irregular (56%), apariencia brillante (89%), propiedades ópticas opacas (100%); pero difieren por la falta de pigmentación (56%) y textura rugosa (56%). Y en los 3100 msnm se mantiene forma irregular (67%), apariencia brillante (100%), propiedad óptica opaca (89%), y difiere a los 2900 msnm con la presencia de pigmentación (56%) y a los 3000 msnm con una textura lisa (67%).

Se identificó que en los tres pisos altitudinales existe la presencia de bacilos Gram negativos sobre el 60% en muestras de suelo. Sobre el 50% en muestras de hojas y sobre el 56% en muestra de flores.

Palabras clave: Consorcios bacterianos, pisos altitudinales, medios selectivos, morfología, tinción Gram.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES

THEME: “CHARACTERIZATION OF BACTERIAL CONSORTIA IN THE CULTIVATION OF ROSES (*Rosa Sp.*) MONDIAL® VARIETY, AT 2900, 3000, 3100 meters above sea level IN COTOPAXI AND PICHINCHA”

Author:
Quinatoa Chasi Kevin Ricardo

ABSTRACT

Microorganisms are of vital importance for ecosystems, since the achievement of nutrient cycles and relationships of mutualism and antagonism in all productive and natural systems depends on them.

The objective of this research was to characterize bacterial consortia present in Mondial® export roses, in three different altitudinal levels. There were two phases to comply it, the first one was to collect samples of soil, leaves and flowers of the aforementioned crop in the parishes of Guaytacama (Cotopaxi), Tabacundo (Pichincha) and Mulaló (Cotopaxi), which are located at an altitudinal level of 2900, 3000 and 3100 m.s.l. respectively; in the second phase a non-selective culture medium was isolated where bacterial colonies appeared, subsequently these were inoculated in two selective media. (Cetrimide and MacConkey) and in a general medium Mueller Hinton each with three repetitions. With the growth of the bacterial consortia in the media, morphological characterization was carried out, by optical perception of three people, who evaluated the following parameters: shape, elevation, margin, appearance, optical property, pigmentation and texture, Gram Staining was also performed for its identification.

With the data obtained, it was determined that the bacterial consortia for soil, leaves and flowers at 2900 meters above sea level presented an irregular shape (56%), shiny appearance (100%), opaque optical properties (89%), with pigmentation (78%) and smooth texture (56%). At 3000 meters above sea level, the characteristics of irregular shape (56%), shiny appearance (89%), opaque optical properties (100%) are maintained; but they differ due to the lack of pigmentation (56%) and rough texture (56%). And at 3100 meters above sea level, the irregular shape is maintained (67%), shiny appearance (100%), opaque optical property (89%), and it differs at 2900 meters above sea level with the presence of pigmentation (56%) and at 3000 meters above sea level with a smooth texture (67%).

It was identified that in the three altitudinal levels there is the presence of Gram negative bacilli over 60% in soil samples. Over 50% in leaf samples and over 56% in flower samples.

Keywords: Bacterial consortia, altitudinal levels, selective media, morphology, Gram staining.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA.....	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xvi
ÍNDICE DE FIGURAS	xvii
1. INFORMACION GENERAL	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	3
3.1 Beneficiarios directos	3
3.2 Beneficiarios indirectos.....	3
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
5. OBJETIVOS.....	4
5.1 General.....	4
5.2 Especifico	4
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	5
6.1 Actividad y sistema de tarea en relación a los objetivos planteados.....	5
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	8
7.1 Antecedentes la floricultura en el Ecuador.....	8

7.2	Impacto de la floricultura en la región interandina del Ecuador.	8
7.3	Sistema de cultivo por parte de agro empresas y pequeñas florícolas.....	9
7.4	Agro explotación en la floricultura ecuatoriana	11
7.5	Agricultura intensiva	11
7.6	Afectación de plaguicidas en la presencia de macroorganismos.....	12
7.7	Bacterias	13
7.8	Uso de bacterias para el beneficio de la agricultura	13
7.9	Conorcios bacterianos	14
7.10	Características morfológicas de bacterias.....	14
7.11	Acción microbiana de acuerdo a pisos altitudinales.....	15
7.12	Inoculación de bacterias.	16
7.13	Medios de cultivo	16
8.	VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICA	18
9.	METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL	18
9.1	Fase de campo.	18
9.1.1	Zonas de estudio	18
9.1.2	Especie y/o variedad.....	21
9.1.3	Toma de muestras.....	22
9.1.4	Procedimientos para la toma de muestras.....	23
9.1.5	Muestreo de suelo.....	23
9.1.6	Muestreo de hojas.....	25
9.1.7	Muestreo de Flores.	27
9.2	Fase de laboratorio.....	28
9.2.1	Inoculación de muestras.	28
9.2.1.1	Elaboración de medios de cultivo general.....	28

9.2.1.2	Inoculación de muestras en los medios de cultivo general.	29
9.2.1.2.1	Inoculación de muestras de suelo.	29
9.2.1.2.2	Inoculación de muestras de hoja.	30
9.2.1.2.3	Inoculación de muestras de flores.	30
9.2.2	Aislamiento de colonias y/o consorcios bacterianos en medios selectivos.	30
9.2.2.1.1	Preparación de Agar MacConkey.	31
9.2.2.1.2	Preparación de Agar Cetrimide.	32
9.2.2.1.3	Preparación de medio de cultivo Mueller Hinton.	32
9.2.2.2	Manejo de muestras y toma de inóculos.	33
9.2.3	Caracterización de las colonias y/o consorcios	34
9.2.3.1	Caracterización morfológica.	34
9.2.3.2	Análisis de datos e interpretación.	35
9.2.3.3	Caracterización por tinción.	35
9.2.3.3.1	Protocolo de fijación de muestras.	37
9.2.3.3.2	Protocolo de Tinción Gram.	38
9.2.3.4	Análisis e interpretación de características por tinción.	39
10.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	40
10.1	Caracterización morfológica de consorcios bacterianos.	40
10.1.1	Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	40
10.1.2	Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	43
10.1.3	Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	46

10.1.4	Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	48
10.1.5	Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	50
10.1.6	Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	53
10.1.7	Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm. ...	55
10.1.8	Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	57
10.1.9	Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	59
10.2	Análisis e interpretación de características de consorcios bacterianos por Tinción.	61
10.2.1	Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	61
10.2.2	Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	63
10.2.3	Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	66
10.2.4	Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	68
10.2.5	Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	70

10.2.6	Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	72
10.2.7	Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	74
10.2.8	Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	77
10.2.9	Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.	79
11.	CONCLUSIONES.....	81
12.	RECOMENDACIONES	82
13.	BIBLIOGRAFÍA	82
14.	ANEXOS	1

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Actividades y sistemas de tarea de los objetivos.....	5
Tabla 2:	Descripción de la variedad Mondial.....	22
Tabla 3:	Caracterización morfológica de consorcios bacterianos.	35
Tabla 4:	Caracterización por tinción y estructura bacteriana	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Porcentaje de provincias que reciben mayor acogida por parte de empresas florícolas 2021.....	9
Figura 2: Características morfológicas presentadas en consorcios bacterianos.	15
Figura 3: San Ramón altura de 3100 msnm.....	19
Figura 4: San Sebastián con una altura de 2900 msnm	20
Figura 5: Barrio San José con una altura de 3000msnm.....	21
Figura 6: Distribución de toma de muestras por disposición del piso altitudinal.....	23
Figura 7: Esquematización de la recolección de muestras de suelo.	24
Figura 8: Codificación para la identificación de las muestras.....	25
Figura 9: Diagrama del muestreo en X para la toma de muestras de hojas.....	25
Figura 10: Zonas foliares de la Rosa.....	26
Figura 11: Diagrama de muestre de flores.	27
Figura 12: formulación de dosis de medio de cultivo general para 100ml.	29
Figura 13: Distribución de medios de cultivo selectivo (MacConkey, Cetrimide) y general (Mueller) por cada medio	31
Figura 14: Movimiento de estrías continuas en tres fases.....	33
Figura 15: Diferenciación bacterias Gram negativas y Gram positivas.....	37
Figura 16: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo Mueller Hinton.	41
Figura 17: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo Mueller Hinton.	42
Figura 18: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo Mueller Hinton.	42

Figura 19: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo MacConkey.	44
Figura 20: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo MacConkey.	44
Figura 21: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo MacConkey.	45
Figura 22: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo Cetrimide.	46
Figura 23: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo Cetrimide.	47
Figura 24: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo Cetrimide.	47
Figura 25: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Mueller Hinton.	49
Figura 26: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Mueller Hinton.	49
Figura 27: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Mueller Hinton.	50
Figura 28: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo MacConkey.	51
Figura 29: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo MacConkey.	52
Figura 30: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo MacConkey.	52
Figura 31: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Cetrimide.	53

Figura 32: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Cetrimide.	54
Figura 33: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Cetrimide.	54
Figura 34: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Mueller Hinton.	55
Figura 35: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Mueller Hinton.	56
Figura 36: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Mueller Hinton.	56
Figura 37: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo MacConkey.	57
Figura 38: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo MacConkey.	58
Figura 39: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo MacConkey.	58
Figura 40: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Cetrimide.	59
Figura 41: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Cetrimide.	60
Figura 42: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Cetrimide.	60
Figura 43: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo Mueller Hinton.	62
Figura 44: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo Mueller Hinton.	62

Figura 45: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo Mueller Hinton.	63
Figura 46: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo MacConkey.	64
Figura 47: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo MacConkey.	64
Figura 48: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo MacConkey.	65
Figura 49: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo Cetrimide.	66
Figura 50: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo Cetrimide.	67
Figura 51: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo Cetrimide.	67
Figura 52: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo Mueller Hinton.	69
Figura 53: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo Mueller Hinton.	69
Figura 54: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo Mueller Hinton.	70
Figura 55: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo MacConkey.	71
Figura 56: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo MacConkey.	71
Figura 57: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo MacConkey.	72

Figura 58: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo Cetrimide.	73
Figura 59: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo Cetrimide.	73
Figura 60: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo Cetrimide.	74
Figura 61: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo Mueller Hinton.	75
Figura 62: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo Mueller Hinton.	75
Figura 63: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo Mueller Hinton.	76
Figura 64: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo MacConkey.	77
Figura 65: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo MacConkey.	78
Figura 66: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo MacConkey.	78
Figura 67: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo Cetrimide.	80
Figura 68: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo Cetrimide.	80
Figura 69: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo Cetrimide.	80
Figura 70: Encuesta de características morfológicas en Muestras de flores a 2900 msnm en medio de cultivo Cetrimide.	18

1. INFORMACION GENERAL

Título del Proyecto:

Caracterización de consorcios bacterianos en el cultivo de rosas (*Rosa sp.*) Variedad Mondial®, a los 2900, 3000, 3100 msnm en Cotopaxi y Pichincha

Fecha de inicio: Abril 2023 – Agosto 2023

Fecha de finalización: Octubre 2023 – Febrero 2024

Lugar de ejecución:

- Provincia Cotopaxi - cantón Latacunga - parroquia Mulaló - Barrio San Ramón.
- Provincia Cotopaxi - cantón Latacunga - parroquia Guaytacama – Brriol San Sebastian.
- Provincia Pichincha - Cantón Pedro Moncayo – Parroquia Tabacundo – San Jose.
- Universidad Técnica de Cotopaxi Campus Salache.

Facultad que auspicia

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Agronomía

Equipo de Trabajo:

- Ing. Wilman Paolo Chasi Vizquete, Mg.
- Ing. Eliana Amparito Boada Cahueñas, Ph.D.
- Ing. Tannya Elizabeth Llanos Proaño, Mg.
- Ing. Mercy Lucila Ilbay Yupa, Ph.D.
- Ing. Clever Gilberto Castillo de la Guerra, Mg.

Área de Conocimiento:

Ciencias

Sub área de conocimiento

Ciencias de la vida y microbiología

Línea de investigación:

Análisis, Conservación Y Aprovechamiento De La Biodiversidad Local

Línea de vinculación de la carrera:

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

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El cultivo de la rosa ha presentado actualmente un impactado significativo en la economía del sector agrícola ecuatoriano, llegando a ubicarse entre los tres principales cultivos exportables, es así que, con el aumento de la demanda de exportaciones, la floricultura se ha expandido de manera considerable, específicamente en la zona interandina del Ecuador. Peña (2008) Con el aumento del área cultivada de rosa, se ha generado un impacto agrícola, produciendo un agro explotación, esto debido a las continuas aplicaciones de pesticidas para el control de plagas y su fertilización artificial, esto podría perjudicar a los micro ecosistemas de las zonas florícolas, afectando de manera significativa la microbiota presente en el suelo y otros órganos de la planta.

Vázquez (2019)

De este modo, esta investigación se enfoca en caracterizar microorganismos (bacterias) presentes en el suelo y de distintos órganos de la planta, como son hojas y flores, extraídas de pisos altitudinales de 2900 msnm, 3000 msnm y 3100 msnm, a los que se les caracterizara de forma morfológica y por tinción, siendo esto de suma importancia, ya que aporta información para conocer e identificar la presencia de consorcios bacterianos en el sector florícola.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1 Beneficiarios directos

Los beneficiarios directos serán 375 estudiantes de la Universidad Técnica de Cotopaxi, en específicamente a los estudiantes de la carrera de Agronomía.

3.2 Beneficiarios indirectos.

Los grandes, medianos y pequeños floricultores de la región interandina del Ecuador y fuera de este.

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El cultivo y exportación de la rosa en el Ecuador ha generado notables ingresos para la economía del país, generando empleos y la extensión de las zonas de producción, dinamizando así la economía del país. Guerra (2012)

Teniendo en claro que la rosa ha sido generadora de empleos y más empresas productoras, esta ha causado impactos secundarios sobre los recursos naturales (suelo, agua, aire y biodiversidad) y microorganismos (hongos y bacterias) Guerra (2012). Las empresas florícolas utilizan una serie de productos químicos para el control de plagas y enfermedades, igualmente de la aplicación continua de fertilización artificial por medio de riego por goteo, delimitando de esta manera la microbiota. Acción Ecológica (2000)

Si bien se han realizado diversas investigaciones sobre el impacto económico, social y ambiental que ha generado el cultivo de la rosa en el Ecuador; el estudio y desarrollo del impacto microbiológico se ha visto como punto de poca importancia, teniendo una escasa información y poco desarrollo por parte de distintas entidades e investigadores.

Resaltar de la misma manera que en el habiente existe un gran número de microorganismos, en especial en el suelo, que, al ser manipulado por los fines productivos como los sistemas agrícolas, sus propiedades se ven alterados provocando una alteración a los micro ecosistemas, degradando significativamente la relación de la microbiota con el suelo, como la degradación del mismo. Alba et al. (2011).

5. OBJETIVOS

5.1 General

- Caracterizar consorcios bacterianos presentes en rosas de corte variedad Mondial®, en tres diferentes pisos altitudinales.

5.2 Especifico

- Distinguir morfológicamente consorcios bacterianos presentes en muestras de suelo, hojas y flores de Rosa variedad Mondial®, a 2900, 3000 y 3100 msnm.
- Determinar por tinción Gram consorcios bacterianos presentes en muestras de suelo, hojas y flores de Rosa variedad Mondial®, a 2900, 3000 y 3100 msnm.

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

6.1 Actividad y sistema de tarea en relación a los objetivos planteados.

Tabla 1: Actividades y sistemas de tarea de los objetivos

OBJETIVO	ACTIVIDAD	RESULTADO DE ACTIVIDAD	MEDIOS DE VERIFICACIÓN
Objetivo específico N° 1			
Fase de Campo			
	Georreferenciación de los sitios de Investigación.	Sitios georreferenciados escogidos para la Investigación	Mapas de ubicación de sitios
Distinguir morfológicamente consorcios bacterianos presentes en muestras de suelo, hojas y flores de Rosa variedad Mondial®, a 2900, 3000 y 3100 msnm.	Recolección muestras (Suelo, Hojas y Flores). De tres pisos altitudinales de la zona interandina	Muestras recolectadas	Libro de campo
Fase de Laboratorio			
	Preparación de Medios de Cultivos No selectivos (Agar Nutritivo)	Unidades de crecimiento bacterianos preparados	Memoria fotográfica

Inoculación de consorcios bacterianos en medios selectivos (Mueller Hinton, MacConkey y Cetrimide)	Medios selectivos preparados e inoculados	Lista de unidades para caracterización
--	---	--

Distinción por características morfológicas los consorcios bacterianos	Análisis de características morfológicas encontradas	Tablas de caracterización morfológica de consorcios
--	--	---

Objetivo específico N° 2

Determinar por tinción consorcios bacterianos presentes en muestras de suelo, hojas y flores de Rosa variedad Mondial®, a 2900, 3000 y 3100 msnm.	Extracción y frotis de muestras de colonias bacterianas para tinción Gram.	Placas tinturadas por tinción Gram.	Placas tinturadas
	Caracterización de consorcios bacterianos por tinción Gram	Caracterización de consorcios bacterianos por tinción Gram	Tabla de caracterización

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.

7.1 Antecedentes la floricultura en el Ecuador.

Ecuador y su posición geográfica evidencian una variabilidad en sus climas y relieves, en los que presentan gran dotación de recursos renovables como no renovables, estos son partícipes relevantes en la productividad y calidad de sus materias primas, las mismas que son pretendidas por el mercado exterior, es así que, históricamente el mercado y la economía ecuatoriana se basa en la extracción y exportación de materias primas, las mismas que incluso forman parte del consumo interno de la población. Peña (2008)

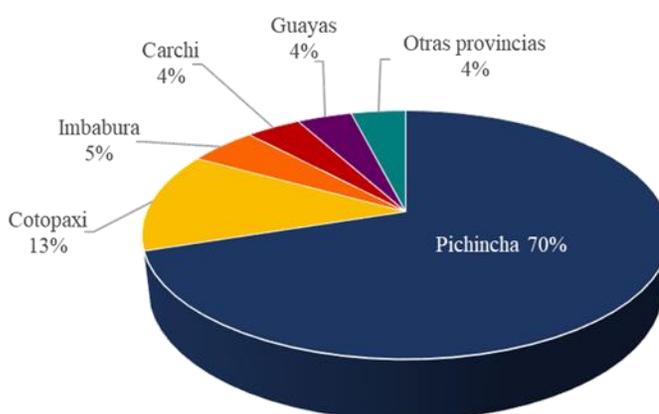
Entre los productos de exportación no tradicionales que han representado un mayor impacto en las exportaciones son las rosas, que según Peña (2008) resalta las cualidades fenotípicas que estas evidencian en campo; manifestando tallos gruesos, totalmente verticales y largos; Incremento del número de días en florero y botones grandes con colores vivos. Es así que las cualidades e índoles que estas presentan han sido reconocidas y premiadas en diversas ferias, compitiendo con rosas de distintos países como Holanda, Colombia, Rusia y Estados Unidos. Peña (2008)

7.2 Impacto de la floricultura en la región interandina del Ecuador.

Las exportaciones de rosas cada vez se han incrementado debido a la demanda que hay a nivel mundial, y en consecuencia, se ha impulsado a la implementación de nuevas empresas florícolas entre grandes, medianas y pequeñas. De acuerdo a la Corporación Financiera Nacional del Ecuador, declara que en el 2021 hubo un total de 278 nuevas empresas, las cuales cuenta con

un total 36,974 empleados; cabe resaltar que en el país hay una mayor concentración de empresas en la zona interandina, siendo Pichincha y Cotopaxi las principales provincias que acogen el gran número de empresas florícolas. CFN (2022)

Figura 1: Porcentaje de provincias que reciben mayor acogida por parte de empresas florícolas 2021.



Fuente:CFN (2022)

7.3 Sistema de cultivo por parte de agro empresas y pequeñas florícolas

Cuando se habla de sistema de cultivo, según Guerra (2012) señala que corresponden a las superficies homogéneas del cultivo aplicadas a nivel de parcelas con un itinerario técnico, en estos sistemas se comprende y se distingue la evolución que posee la población vegetal ya sea su crecimiento, desarrollo, itinerarios técnicos, su productividad y rentabilidad, es así que, cuando se intenta realizar una comparación entre una agro empresas y microempresas dedicadas a la producción de rosas, se encuentran con un gran número de variables que forman parte de cómo se

maneja sistema sus de cultivo o de producción, comenzando primeramente por la distribución de tierras.

La floricultura en el Ecuador ya lleva un gran número de años, en donde de acuerdo a Guerra (2012), menciona que la floricultura se insertó primeramente en la serranía ecuatoriana, comenzando con la plantación de crisantemos y claveles, las mismas que se las cultivaba en Puenbo, el éxito que obtuvo la producción de estas ornamentales impulso a diferentes sectores como el de Tabacundo y Cayambe a implementar la producción de ornamentales, es así que en la producción de rosas inicio en dichos sectores con una extensión de 1,5 ha y que al día de hoy según CFN (2022) se ha llegado un total de 5,581 ha.

Con respecto a la repartición de tierra, Guerra (2012) señala que durante la fase que tuvieron las empresas florícolas para consolidarse, específicamente en el sector de Cayambe, la alta productividad en relación con la superficie, dinamizo el mercado de tierras, en consecuencia a esto el costo de las tierras aumento abruptamente generando una presión de oportunidad por parte de algunos campesinos que optaron por la venta de sus tierras y aumentando así la reconcentración de la propiedad y esta acción tendría sucesión en distintas provincias de la serranía ecuatoriana.

Por parte de la tenencia de tierra de las agro empresas y microempresas, se puede mencionar que por parte de la agro empresas florícolas existe una gran número de superficies del cultivo que se las mide por hectáreas y que a diferencia de una microempresa que sus superficies van desde los 1000 a 5000 m², este factor como es la tenencia de tierras acarrea un numero de variables que diferencian aún más a una agro empresa de una micro empresa, como es el manejo técnico, la fertilización, control de plagas, mano de obra entre otras. Calero (2021).

7.4 Agro explotación en la floricultura ecuatoriana

Al referirnos a la agro explotación, se hace énfasis al impacto que se tiene al momento de la sobre producción de cualquier cultivo, este dado a la intensiva agricultura que hoy en día se maneja, la misma que provoca a un largo plazo una notable deterioración sobre los recursos naturales (agua, suelo, aire. Etc.), llegando a esterilizar el suelo y contaminar el agua. Puerto et al. (2014).

El uso de productos químicos, es uno de los factores que provoca más contaminación ambiental dentro de la agricultura, esto dado que en este sector el uso de estos es frecuente, tal es el caso de los plaguicidas, que son utilizados para la gran parte de los cultivos para el control de plagas y enfermedades, esto y con ciertos factores que forman parte de la contaminación como: el lavado inadecuado de tanques, las aplicaciones directas a los cultivos, derrames accidentales, el uso inadecuado por parte de la población, entre otros. Es así que con el paso del tiempo estos factores se van acumulando y siendo parte de un impacto ambiental de no retorno, Puerto et al. (2014).

7.5 Agricultura intensiva

La actividad agrícola es un fenómeno de explotación a la naturaleza, en donde ultimadamente se ha popularizado la agricultura intensiva, en la cual busca la producción masiva en un espacio reducido, a manera que se ha desarrollado un gran número de sistemas de producción con el objetivo de reforzar la producción. Ultimadamente, un ejemplo de agricultura intensiva se refleja en el uso de invernaderos, los mismos que permiten un alto rendimiento, por el hecho del aislamiento en condiciones naturales por medio de técnicas de climatización (humidificación,

iluminación, calefacción, ...) y técnicas culturales como la fertirrigación, sustratos, elaboración de camas entre otras para maximizar la ocupación del área del cultivo. León Cifuentes (2010).

Con la aplicación continua de la agricultura intensiva en referencia al uso de los invernaderos, la afectación que este ha provocado es notable por el hecho de que los residuos que este produce son de alto impacto sobre la naturaleza y de manera específica sobre el suelo, esto principalmente por el uso de agroquímicos, en concreto con los nitratos y plaguicidas, es así que en diversos estudios ha predominado la afectación que provoca los residuos por parte de la aplicación sistema de producción a base de invernaderos. León Cifuentes (2010).

7.6 Afectación de plaguicidas en la presencia de macroorganismos

De acuerdo a MAATE (2020), establece que una las características principales de los plaguicidas, es que los mismos permanecen mucho tiempo en el ambiente, con una gran resistencia a la degradación solar, transportándose por a largas distancias por agua y aire, sin importar el lugar en donde fueron aplicados, es así que el MMAATE resalta que la salud y el ambiente son los principales afectados por los plaguicidas teniendo consecuencias irremediables.

Establece Vivas (2020) que con respecto al suelo, el continuo ingreso de pesticidas a este, afecta de manera drástica los procesos biológicos que los microorganismos realizan, los mismos procesos que forman parte necesaria para la fertilidad y productividad de los cultivos, corroborando a las consecuencias de los plaguicidas Alvear Z et al. (2006), menciona que se puede llegar a una inestabilidad de la microbiota en el suelo, teniendo un desequilibrio y baja actividad de esta.

7.7 Bacterias

Las bacterias son aquellos organismos unicelulares procariontes, que poseen un tamaño inferior que al de los hongos, se producen de forma vegetativa por la división de la célula, dichos organismos habitan en la mayor parte de la tierra, incluso soportando grandes temperaturas expuestas a grandes presiones, es así que son una parte vital para los ecosistemas. Verdeguer (1985).

Según Curtis et al. (2008) menciona que las bacterias a lo largo del tiempo se han dividido en doce grandes linajes, los mismos que se han agrupado de acuerdo con la afinidad de sus secuencias de RNA y que sus formas celulares son diversas, como coco bacilos, bacilos, cocos, espirilos, espiroquetas, filamentos y vibriones.

7.8 Uso de bacterias para el beneficio de la agricultura

A pesar de que las bacterias se consideran como entes perjudiciales para las plantas, en diversas investigaciones se han descubierto bacterias que pueden ser utilizadas como entomopatógenos, según Badii & Abreu (2006) al momento se han descubierto tres especies que pueden ejercer control biológico sobre insectos siendo las siguientes: *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus Sphericus* y *Bacillus pupilliae*, de estas especies se han encontrado subespecies y razas, las mismas que han presentado toxinas que durante su proceso de esporulación llagan a producir cristales proteicos con efecto insecticidas y toxinas con el mismo efecto, controlando plagas agrícolas como: *Heliotis*, *Pieris*, *Plusia*, *Plutella*, *Ostrina*, *Capua*, *Prays*, *Cacoecia*; Estas bacterias actúan sobre las plagas por medio de la ingestión y su transmisión se puede dar por medio de

parásitos y depredadores que transmiten dichas bacterias de un individuo a otro. Badii & Abreu (2006).

Dentro de la productividad agrícola, Morales et al. (2021), llama a una minuciosa atención a los efectos que estos pueden tener dentro del cualquier cultivo, dado que el microbioma que posee la planta aporta un nivel significativo a la información genética que esta posee, lo que puede llevar a que los consorcios bacterianos puedan ser beneficiosos o perjudiciales, perjudicando al crecimiento, desarrollo, funciones de la planta y por ende a la productividad y su rendimiento.

7.9 Consorcios bacterianos

Según Morales et al. (2021) menciona que los microorganismos, junto a la genética y los factores ambientales, son perjudiciales para la salud de la planta, determinado que los consorcios bacterianos son comunidades bacterianas que coexisten en un lugar, desempeñando varias funciones, las mismas que lo hacen en el interior de dicha comunidad y dentro de un hospedero.

Los consorcios y/o colonias bacterianas en sí son fruto de la reproducción de una unidad formadora de colonia (UFC), en donde esta es visible a simple vista, es así que una UFC puede ser única o pueden ser varios de una misma especie, los consorcios y/o bacterias poseen una forma, textura y otras características, que las hacen particularmente únicas.

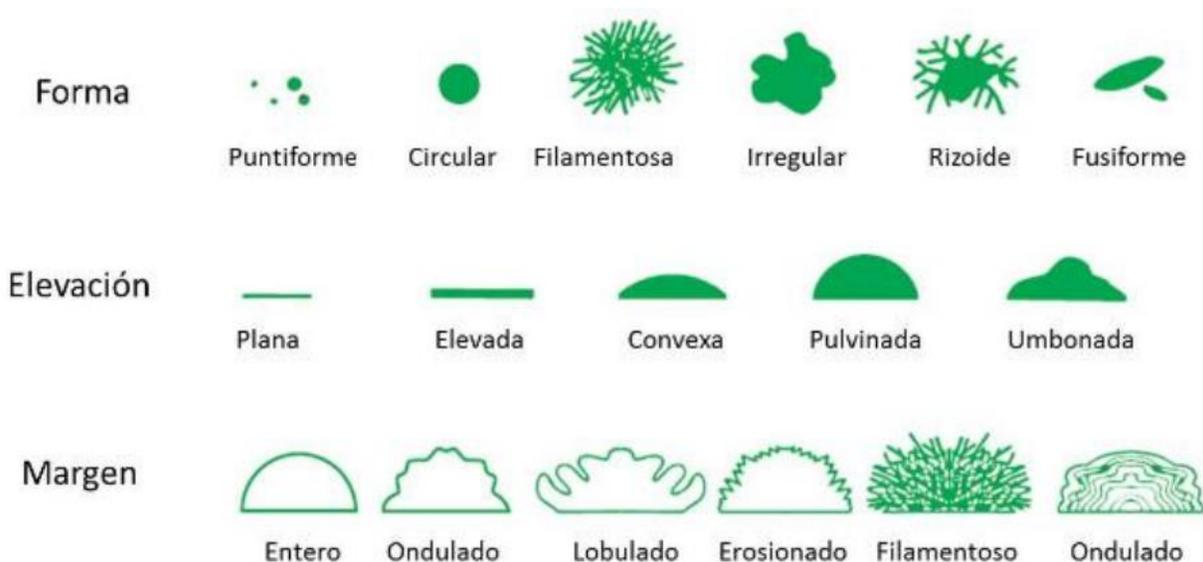
7.10 Características morfológicas de bacterias.

Según Bou et al. (2011), señala que para la identificación preliminar de colonias bacterianas, la caracterización morfológica es la más sencilla, puesto que se la realiza por medio de observación macroscópica con la diferenciación de los microorganismos. Para la identificación morfológica es aconsejable realizarla en medios de cultivo frescos y no selectivos (generales), de

la misma manera el aislamiento de una única UFC, por el hecho que el consorcio debe estar formado por un único microorganismo que procederá de una única célula. Bou et al. (2011).

Una vez se ha desarrollado el consorcio bacteriano, se describen de acuerdo con las características macroscópicas como son: forma, elevación, margen, apariencia, propiedades ópticas, pigmentación y textura.

Figura 2: Características morfológicas presentadas en consorcios bacterianos.



Fuente: O'Connor (2019)

7.11 Acción microbiana de acuerdo a pisos altitudinales

Según Lorena et al. (2023), menciona que el conocimiento de la diversidad microbiana, según aumenta la altitud, es cada vez más escasa, mencionando que algunos autores han demostrado que en algunos ecosistemas la diversidad microbiana disminuye según va aumentando

la altura, aunque en distintos estudios mostraron un comportamiento distinto, en donde los microorganismos estudiados no presentaron una clara influencia de gradientes altitudinales.

7.12 Inoculación de bacterias.

De acuerdo con Senasica (2020), indica que el aislamiento bacteriano es la extracción de una muestra pura de bacterias a un ambiente controlado con el uso de técnicas de laboratorio donde se fomenta su crecimiento y desarrollo para su identificación.

El aislamiento de bacterias es una práctica de mucha importancia, dado a las distintas investigaciones que puede asistir, de acuerdo a (Marin L & Jaramillo C, 2015) en su investigación de Siembra de bacterias degradadoras de pesticidas organofosforados encontrados en leche bovina y en suelos Erosión y manejo del suelo. Importancia del laboreo ante los procesos erosivos naturales y antrópicos., hace énfasis en la importancia que tuvo el uso de aislamiento bacteriano, esto dado que se pudo identificar a diversas bacterias tales como, *Bacillus* sp y *Pantoea agglomerans*, las mismas que presentaron resultados de degradación en la concentración de clorpirifos, demostrando que estos pueden ser una posible solución para el mejoramiento de suelos contaminados.(Marin L & Jaramillo C, 2015)

7.13 Medios de cultivo

De acuerdo a Doménech (2012), define a los medios de cultivo como el conjunto de elementos que crean las condiciones favorables para el desarrollo de microorganismos, de manera

que el desarrollo de los microorganismos se da por micronutrientes, elementos traza, en conjunto a factores de crecimiento.

Según Martinko et al. (2004) menciona que los medios de cultivo son aquellas soluciones nutritivas utilizadas en el laboratorio para el cultivo de microorganismos, es así que para microbiología existen dos tipos de medios de cultivo, los medios generales y medios selectivos; de manera que los medios selectivos son aquellos que permiten el desarrollo de organismos específicos, al contrario de los generales permiten el desarrollo de un gran número de microorganismos.

Los medios de cultivo poseen en sus soluciones elementos que ayudan al funcionamiento celular, siendo el Cr, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Se, W, V, Zn y Fe los más comunes en utilizar, además de que hay distintos medios, tales como:

- Sólidos y Líquidos.
- Medio mínimo: medio basal + fuente de carbono.
- Medio mineral o basal: compuestos inorgánicos.
- Medio de enriquecimiento.
- Medio rico: todos los requerimientos nutritivos.
- Medio selectivo.
- Medio diferencial.

8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICA

¿Se podrá Caracterizar consorcios bacterianos presentes en rosas de corte en diferentes pisos altitudinales mediante observaciones morfológicas, por tinción Gram..?

Para lo cual se estableció una metodología de observación directa por percepción de diferentes placas de crecimiento bacteriano y a estas las realizamos tinciones Gram para distinguir bacterias Gram negativas y positivas

9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Para la elaboración de esta investigación, se implementaron dos fases: una fase de campo y otra fase de laboratorio. Con respecto a la fase de campo, se realizó el análisis y definiciones de las zonas de estudio y la toma de muestras. En cambio, en la fase de laboratorio se estableció la inoculación y desarrollo de las muestras en los medios de cultivo (general y selectivo), caracterización morfológica y caracterización por tinción.

9.1 Fase de campo.

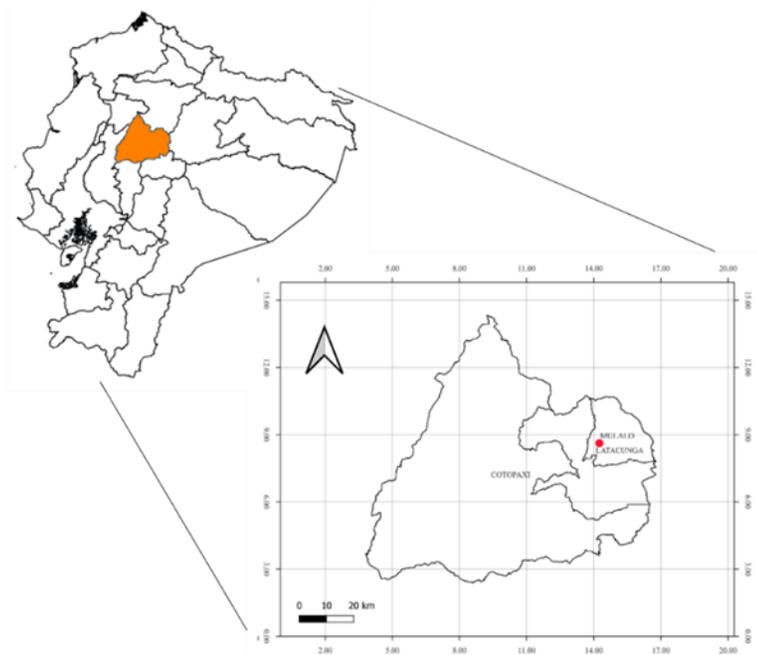
9.1.1 Zonas de estudio

Para el establecimiento de la zona de estudio se tomó en cuenta que las mismas tengan una variabilidad en su altitud, teniendo como referencia una distancia de 100 msnm; es así, que se establecieron los tres siguientes pisos altitudinales.

Como primera zona de estudio es implemento en un invernadero familiar de un área de 2500 m² procedente de la comunidad de San Ramón, parroquia Mulaló, cantón Latacunga,

provincia de Cotopaxi, con una ubicación de 770611 – 9916342 UTM y con una altura de 3100 msnm, siendo el Sr. Klever Guerrero su propietario.

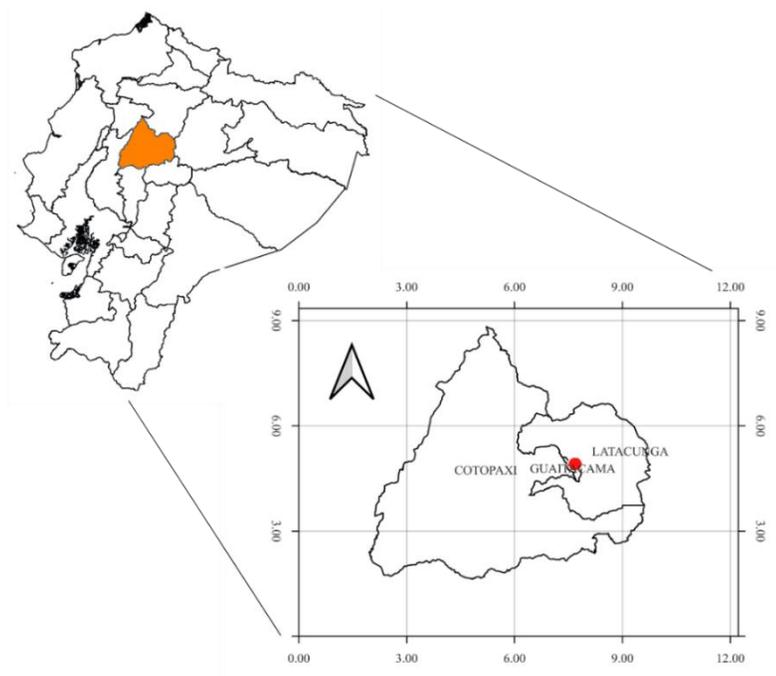
Figura 3: San Ramón altura de 3100 msnm.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Como segunda zona de estudio se determinó al invernadero ubicado en el barrio de San Sebastián, con una dimensión de 500 m², ubicado en la parroquia de Guaytacama, catón Latacunga, provincia de Cotopaxi; Con una ubicación de 762962 – 9909910 UTM y una altura de 2900 msnm, siendo la señora Viturco Marcia su propietaria.

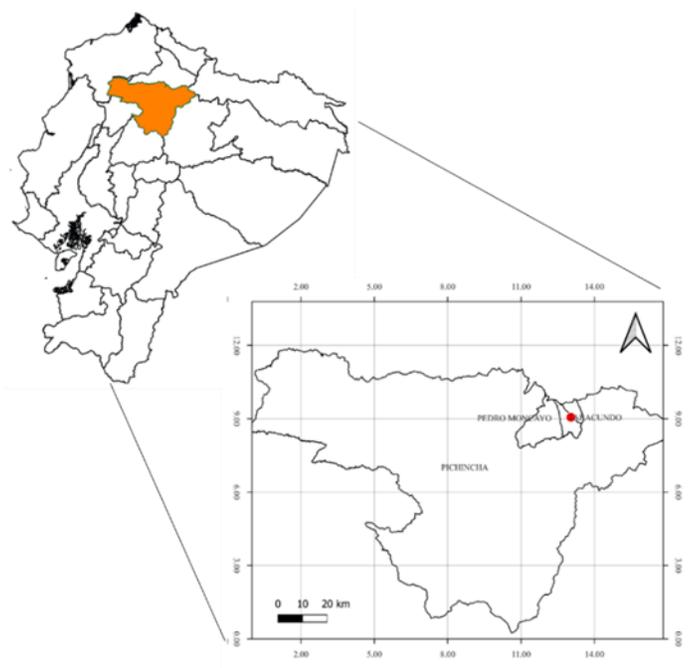
Figura 4: San Sebastián con una altura de 2900 msnm



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Como última zona de estudio se determinó al invernadero con una dimensión de 5000 m² siendo el señor Robinson Puente su propietario y a diferencia de las anteriores zonas, esta zona se encuentra ubicada en el barrio San José de la parroquia de Tabacundo, cantón Pedro Moncayo, provincia de Pichincha, siendo su ubicación, 811070 – 10008183 UTM y con una altura de 3000 msnm.

Figura 5: Barrio San José con una altura de 3000msnm



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

9.1.2 Especie y/o variedad

Se estableció como variable estándar a la rosa variedad Mondial[®] como especie vegetal a evaluar considerando sus características comerciales, resaltando que forma parte de una de las variedades con mayor demanda en el comercio internacional, esto por su color, tamaño de botón, vida en florero, longitud y productividad, además que es utilizada para tinturados. Tomas (2022).

Tabla 2: Descripción de la variedad Mondial.

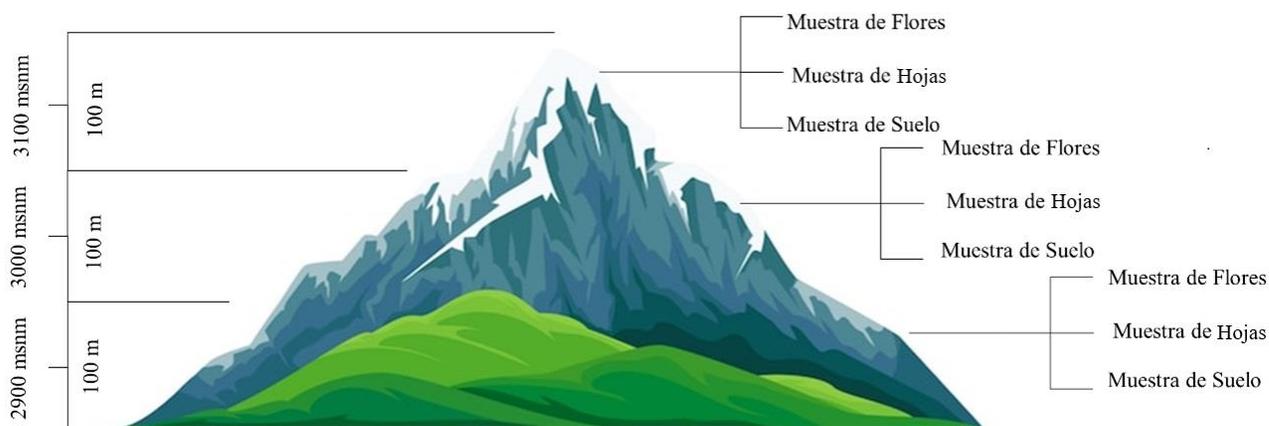
Descripción de la variedad Mondial.		
	Nombre científico	<i>Rosa sp.</i>
	Tipo	Blanco – Verdoso
	Color de botón	3,5 – 4 cm
	Diámetro de Botón	50 a 90 cm de largo
	Vida en florero	16 días
	Follaje	Verde oscuro
	Número de pétalos	30 – 35
	Longitud de tallos	60 – 80 cm
Productividad (Flor/planta/mes)	1.0 – 1.2	

Fuente: (PLANTEC, 2018)

9.1.3 Toma de muestras.

Para la toma de muestras se estableció el muestreo de suelo, hojas y flores, esto debido a que, mayormente, el ataque de plagas y enfermedades se da en las flores y hojas, mientras que el suelo puede llegar a ser hospederos de plagas (J. Díaz et al., 2020). En la siguiente figura se establece la distribución de la toma de muestras descuerdo a los pisos altitudinales.

Figura 6: Distribución de toma de muestras por disposición del piso altitudinal.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

9.1.4 Procedimientos para la toma de muestras.

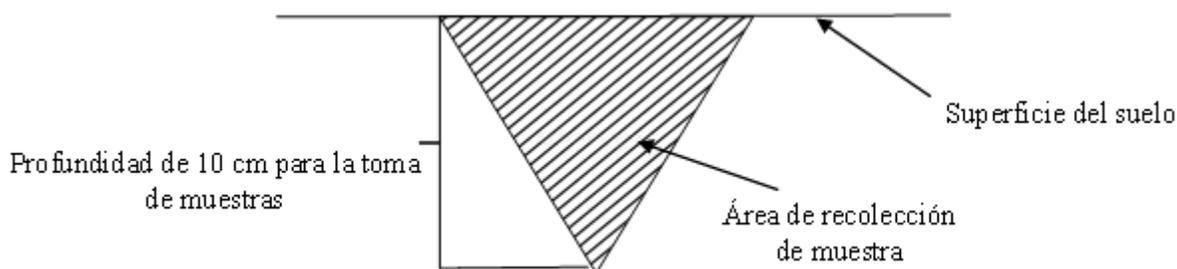
Para la toma de muestras, a cada una se la obtuvo de distinta manera, este dado que se tomó en cuenta si era una muestra de suelo, hojas o flores, el motivo por la cual la extracción de las muestras es distinta es debido a que existen protocolos y normas que detallan el manejo que se debe realizar para la obtención de las muestras sin tener una mayor alteración, ya sea física, química o biológica.

9.1.5 Muestreo de suelo.

Para realizar un muestreo representativo y generar la obtención de datos válidos, la toma de muestras de suelo se realizó según lo indicado por el Instituto Ecuatoriano de Normalización

(INEN) en sus Normas Técnicas Ecuatorianas NTE-INEN ISO 10381-4 (NEN (2014b) y NTE-INEN ISO 10381-2 (INEN, 2014a), Se realizó un muestreo al azar por un movimiento en zigzag, esto con el fin de tener variabilidad, estableciendo el lugar y con la ayuda de un palín, se realizó una recolección superficial de 0.1 m.

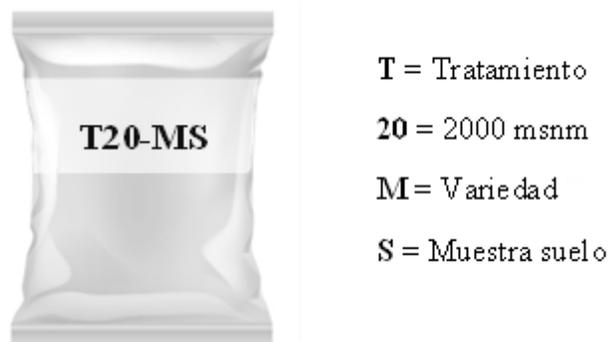
Figura 7: Esquematación de la recolección de muestras de suelo.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Esta actividad de extracción de suelo se realizó por 15 ocasiones para la obtención de submuestras, donde éstas fueron recolectadas en fundas plásticas. Al final de la recolección se procedió a la unión de estas, teniendo 150 g de muestra de suelo total. Las muestras de suelo obtenidas en los distintos pisos altitudinales fueron codificadas para posteriormente ser colocadas en un ambiente fresco, específicamente en un refrigerador, esto con el fin de evitar la pérdida de sus propiedades físicas como su humedad o temperatura.

Figura 8: Codificación para la identificación de las muestras.

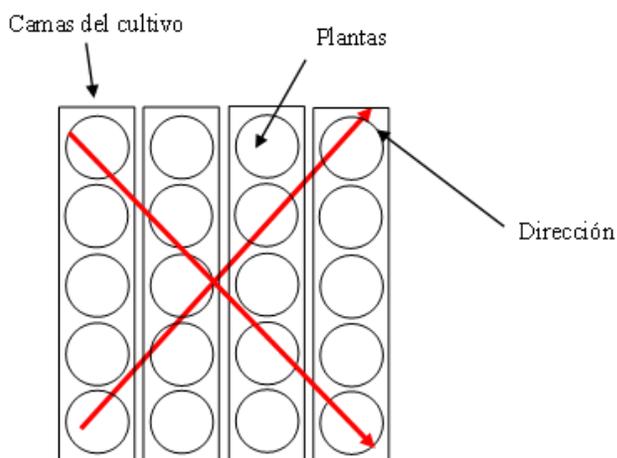


Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

9.1.6 Muestreo de hojas.

Para el muestreo de las hojas, se estableció con la ayuda de la guía para la toma de muestra foliar propuesta por UTADEO (2018), mencionado que para una correcta recolección de muestras foliares se debe tener en consideración la distribución de las plantas en el terreno, para luego establecer un patrón de muestreo, en donde se estableció un diagrama en X como se presenta en el siguiente diagrama.

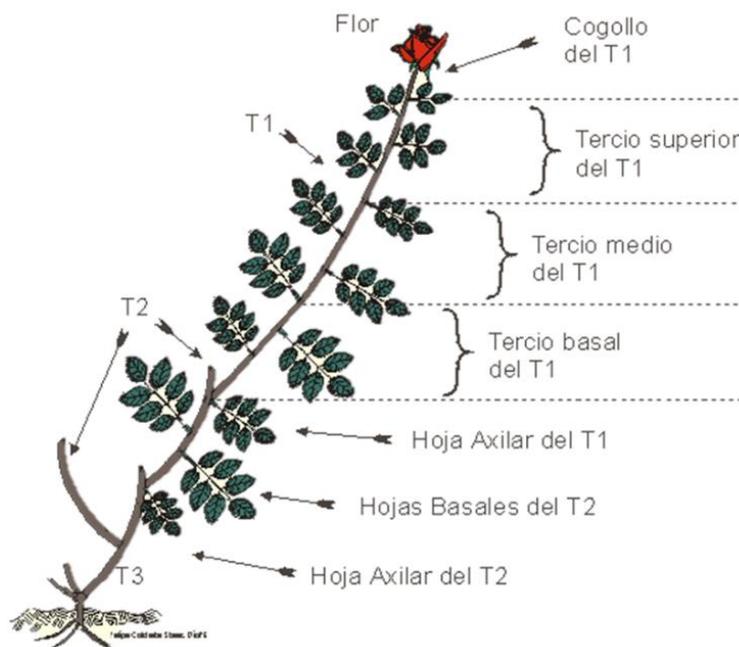
Figura 9: Diagrama del muestreo en X para la toma de muestras de hojas.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Determinado el diagrama para el muestreo de hojas, de acuerdo a (UTADEO, 2018), menciona que se debe establecer la parte de la planta en el que se va a realizar el muestreo, determinando que para el cultivo de rosas es preferible el muestreo en la primera o segunda hoja bien formada del botón hacia abajo, que van desde el tercio superior hasta las hojas axilares, de esta forma se realizó el muestreo de hojas a partir de 15 plantas con un número de 2 hojas por plantas floración.

Figura 10: Zonas foliares de la Rosa.

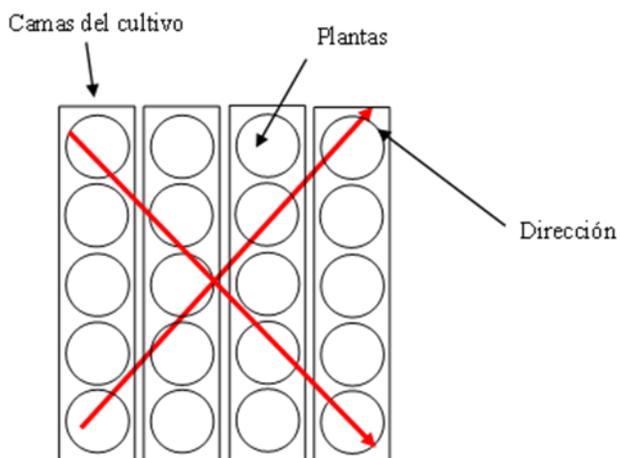


Fuente: Calderón F. (2001)

9.1.7 Muestreo de Flores.

Debido a que no se ha establecido un protocolo en específico para la toma de muestras de flores en rosa, se procedió con el uso con guiade muestreo foliar propuesto por UTADDEO (2018), en donde se estableció el mismo diagrama en forma de X para la recolección de muestras, en donde a diferencia de la toma de hojas se procedió a la toma de pétalos de la rosa recolectando entre 3 a 5 pétalos de estas, es así que se escogieron 15 plantas en donde se recogieron 3 pétalos por planta.

Figura 11: Diagrama de muestre de flores.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

9.2 Fase de laboratorio.

Una vez recolectadas las muestras en las zonas de estudio, se dio por finalizada la fase de campo, para posteriormente proceder en la fase de laboratorio, en donde, se desarrollaron los procedimientos de identificación de colonias y/o consorcios bacterianos, es así que, se realizaron distintos procedimientos para poder obtener colonias bacterianas para luego ser analizadas e identificadas.

9.2.1 Inoculación de muestras.

Para la inoculación de las muestras, primeramente, se elaboraron los medios de cultivo generales, los mismos que fueron realizados con el medio de cultivo general Agar Nutritivo; Debido a que son 3 tipos de muestras a 3 diferentes pisos altitudinales, se tuvieron que realizar nueve recipientes con Agar Nutritivo.

9.2.1.1 Elaboración de medios de cultivo general.

Según Dibico et al. (2019), menciona que se debe colocar 23 g de Agar nutritivo en 1 L de agua destilada, calentar hasta el punto de ebullición para posteriormente ser esterilizado en el autoclave aproximadamente 121 °C (15 lbs de presión) durante un periodo de 15 minutos, una vez culminada la esterilización ser enfriada a 45 °C para luego ser utilizado en cajas Petri.

Para la elaboración de los medios de cultivo general se optó por el uso tapers, esto debido a que sus grandes dimensiones, a diferencia de las cajas Petri, ayudan al desarrollo de un gran número de microorganismos, y al mismo tiempo abarcan una gran cantidad de medio, es así que, por cada taper se colocó una cantidad de 100 ml de medio, de manera que se preparó 900 ml de

agua destilada con 20.7 g de medio de cultivo Agar Nutritivo, esto sin cambiar los siguientes procedimientos.

Figura 12: formulación de dosis de medio de cultivo general para 100ml.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

9.2.1.2 Inoculación de muestras en los medios de cultivo general.

Para la inoculación de las muestras obtenidas en la fase de campo, se realizaron de acuerdo con el tipo de muestra ya sea de suelo, hojas y flores, en donde se las detallarán a continuación.

9.2.1.2.1 Inoculación de muestras de suelo.

Para el procedimiento de la inoculación de las muestras de suelo de los tres pisos altitudinales, se estableció que dado que la cantidad de muestra de suelo es de 150 g, es demasiado grande para colocarlas por completo en los tapers con los medios generales, es así que, se realizó una mezcla completa y homogénea en donde se colocó una cantidad de 10 g de suelo no tamizado en los tapers con los medios.

9.2.1.2.2 Inoculación de muestras de hoja.

Con respecto a la inoculación de las muestras de hojas, se estableció que al tener una cantidad de 30 hojas por piso altitudinal y al ser los tapers muy pequeños para colocar a todas, se realizó una selección al azar, en donde se escogieron 2 hojas, para colocarlas a un proceso de agitación constante, en el que las hojas seleccionadas fueron colocadas en un vaso de precipitación con 10 ml de agua destilada y con el uso del agitador, se sometió a una constante agitación de las hojas para la extracción bacteriana presente en estas, es así que al transcurrir 5 min, se extrajo 2 ml de la solución y colocadas en los medios de cultivo generales.

9.2.1.2.3 Inoculación de muestras de flores.

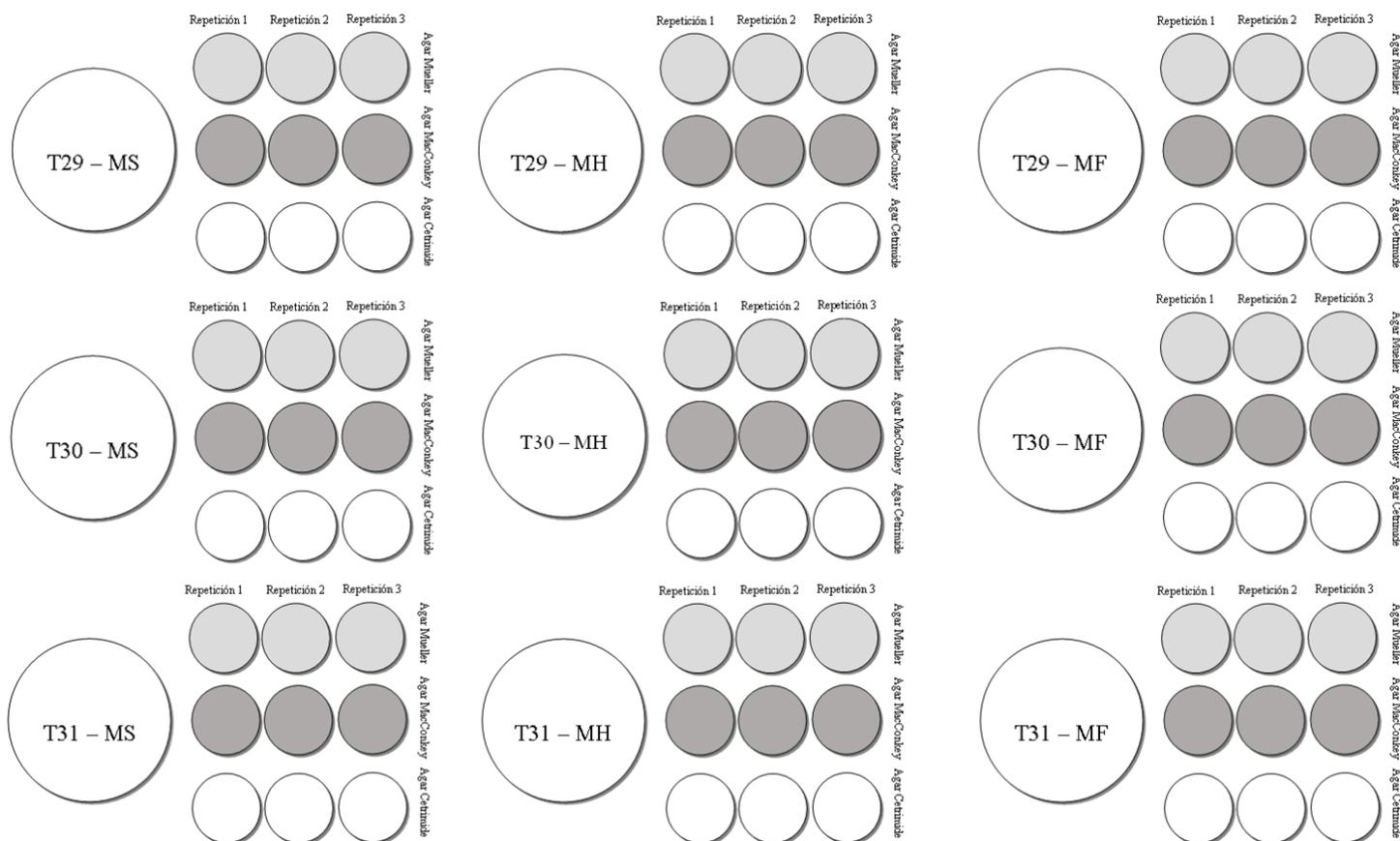
Para la inoculación de muestras de flores, al contar con 45 pétalos por cada piso altitudinal, los mismos no se podían colocar dentro de los tapers, de este modo se procedió a la selección de pétalos al azar, escogiendo 2 pétalos para su respectiva colocación dentro de los tapers.

9.2.2 Aislamiento de colonias y/o consorcios bacterianos en medios selectivos.

Al transcurso de 72 horas y al observar crecimiento bacteriano en los medios de cultivo general, se realizó la inoculación de bacterias en los medios de cultivo Mueller Hinton, MacConkey y Cetrimide, esto con el fin, de observar un desarrollo un tanto específico, dentro de estos medios, de manera que para que se pueda observar variabilidad de los 9 cultivos generales (Agar Nutritivo) surgirán 2 medios selectivos (MacConkey, Cetrimide) y un medio general (Mueller Hinton), en donde contarán con tres repeticiones, para una mejor comprensión se representaron la distribución de los medios de cultivo en la siguiente figura.

Figura 13: Distribución de medios de cultivo selectivo (MacConkey, Cetrimide) y general

(Mueller) por cada medio



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

De acuerdo con la distribución de los medios selectivos, se tiene un total de 27 cajas Petri por medio, de este modo se utilizó un total de 81 cajas Petri para la inoculación de colonias bacterianas para los 9 medios generales.

9.2.2.1.1 Preparación de Agar MacConkey.

Según Britanlab (2022), para la preparación del medio de cultivo Agar MacConkey, se debe colocar 50 g del medio en 1 L de agua destilada para posteriormente llevar a ebullición de 1

a 2 minutos, esto hasta su completa disolución, de esta forma, después se la debe colocar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos para luego ser distribuido en cajas Petri.

Para la distribución del medio en cajas Petri se estableció que por cada caja se debería colocar 20 ml de medio, de manera que por las 27 cajas que se necesitan para las 9 muestras, se deberá contar con una solución total de 540 ml de agua destilada con 27 g de Agar MacConkey.

9.2.2.1.2 Preparación de Agar Cetrimide.

Para la preparación de agar cetrimide según Britania Lab (2021), establece que 45.3 g del medio debe disolverse en 1 L de agua destilada, dejar en reposo por 5 minutos para después hervir durante 1 min para su completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Como para el desarrollo de la inoculación en medios selectivo es necesario el uso de 27 cajas Petri por medio, se determinó que por cada caja se debe incorporar 20 ml de medio de cultivo Cterimide, teniendo un total de 540 ml de medio a preparar, esto con una dosis de 24,46 g de medio de cultivo.

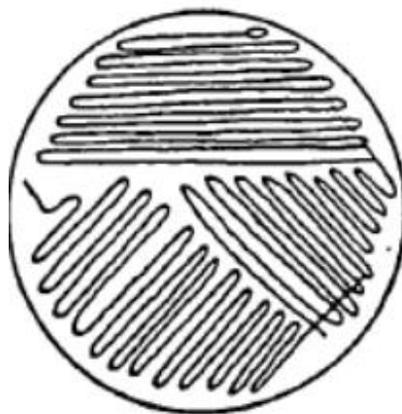
9.2.2.1.3 Preparación de medio de cultivo Mueller Hinton.

Para la preparación del medio MCD LAB (2018) sugiere suspender 38 gr del medio en 1 L de agua destilada, seguida de una agitación suave hasta su completa disolución para luego llevar a esterilizar en el autoclave a 121°C con un periodo de 15 min, una vez concluida la esterilización dejar enfriar a una temperatura ambiente para luego vaciar en cajas Petri.

9.2.2.2 Manejo de muestras y toma de inóculos.

Una vez preparados los medios, para la correcta inoculación de las bacterias en los medios antes mencionados, se realizó la metodología propuesta por Sanz Cervera (2016), en el que para la realización de una correcta inoculación se debe contar con un mechero, la muestra para la toma del inóculo y la caja en donde se depositara este, con la ayuda de una asa de siembra, se colocó la misma en la flama del mechero, hasta que el alambre flamee y alcance un rojo incandescente. Después de esto, se deja reposar por 10 segundos, para posteriormente ser llevado a la muestra. Cabe recalcar que todos los procesos de la toma del inóculo se deben llevar a cabo cerca del mechero, esto con el fin de llevar un ambiente controlado y libre de contaminación. Se coloca el asa de siembra en la muestra y se extrae una pequeña cantidad de muestra del cultivo que crece en la zona superficial del medio. Una vez extraído el inóculo y manteniendo una distancia óptima con la flama del mechero, se procede a llevar el asa de siembra al medio ya sea selectivo o general y se colocó el asa en un borde de la caja y haciendo un movimiento de estrías continuas en tres fases, una vez culminado la siembra se tapa el medio cultivado y se procede con las siguientes muestras.

Figura 14: Movimiento de estrías continuas en tres fases.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

9.2.3 Caracterización de las colonias y/o consorcios

Al cumplir 72 horas de la inoculación en los medios, el crecimiento bacteriano es notorio, de manera que al tener una gran diversidad de colonias bacterianas presentes en los 81 medios, se establecieron dos metodologías de caracterización: caracterización morfológica y caracterización por tinción.

9.2.3.1 Caracterización morfológica.

Con respecto a la caracterización morfológica, la misma se la realizó de manera visual, considerando la observación de 2 estudiantes y un docente laboratorista; a cada persona, se le realizó una serie de preguntas, cada una refiriéndose a los posibles caracteres que pueda tener los consorcios (Anexo 2). De esta manera, a cada encuestado se establecieron las siguientes preguntas de acuerdo con el carácter que se quiera definir.

- Forma del consorcio: ¿puntiforme, circular, filamentoso, irregular, rizoide o puntiforme?
- Elevación posee: plana, elevada, convexa, pulvinada o umbonada.
- Margen: Entro, ondulado, lobulado, erosionado, filamentoso, ondulado.
- Apariencia posee: brillante o mate.
- Propiedades ópticas posee: opaca, traslúcida o transparente.
- Pigmentación: Sí (roja, amarilla, rojiza), no (crema, blanca).
- Textura posee: lisa o rugosa.

Los resultados obtenidos fueron recolectados en tablas Excel donde se recaudaron los criterios de los encuestados, considerando las características y las variables de esta.

Tabla 3: Caracterización morfológica de consorcios bacterianos.

MUESTRA	Persona	Forma						Elevación				Margen				Apariencia		Propiedades ópticas			Pigmentación		Textura					
		Puntiforme	Circular	Filamentosa	Irregular	Rizoide	Fusiforme	Plana	Elevada	Convexa	Pulvinada	Umbonada	Entero	Ondulado	Lobulado	Erosionado	Filamentoso	Ondulado	Brillante	Mate	Opaca	Traslúcida	Transparente	Pigmentadas	No pigmentadas	Lisa	Rugosa	
T29-MS-MU-R1 T31-MF-CE-R3	1																											
	2																											
	3																											
General																												

Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

9.2.3.2 Análisis de datos e interpretación.

Una vez completada la encuesta y con la obtención de resultados, los datos obtenidos fueron agrupados por las repeticiones en categorías, de esta manera se realizaron tablas de frecuencias, las mismas que fueron representadas por diagramas en donde para cada característica morfológica se estableció un color en el que cada variable dentro de cada carácter es representada por la degradación de este.

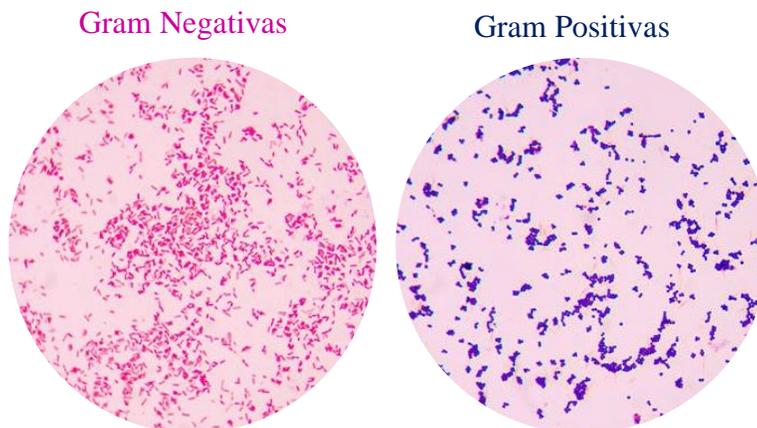
9.2.3.3 Caracterización por tinción.

Jácome et al. (2014) menciona que, el uso microscopio para microbiología es indispensable para la identificación temprana y exacta de microorganismos; de este modo, el aprovechamiento del uso que se le da al microscopio, se han desarrollado metodologías tinción que permiten destacar las características de diversos microorganismos, de manera que un colorante tiene la capacidad de proporcionar color a células, tejido, fibras, etc. Al hablar de tinción, se refiere a la acción de teñir, en el que cumple el propósito de que se pueda ser visibles los objetos microscópicos y transparentes, que se puedan evidenciar las estructuras internas y externas, el identificar su color

y textura, además que funcionan para producir reacciones químicas específicas. Jácome et al. (2014).

Al entendimiento del uso de la tinción para la caracterización de los microorganismos, para la caracterización de las estructuras de las colonias bacterianas presente en los medios selectivos, se estableció el uso de la tinción Gram, que de acuerdo a Jácome et al. (2014), la tinción Gram es una técnica de mucha utilidad, esto debido a su sencillez, eficacia y baja inversión económica, resaltando que la tinción Gram sigue siendo una de las más utilizadas universalmente. Al realizar la tinción Gram, esta se basa en la caracterización de la pared celular de las bacterias, lo cual determina las propiedades a cada microorganismo, es así que la tinción separa a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas, siendo las Gram negativas aquellas que están constituidas por una capa fina de peptidoglucano y con una membrana externa, al contrario de las Gram positivas que poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglucano pero con la ausencia de una membrana celular externa, aunque se puede evidenciar el tipo de pared celular que poseen las bacterias, la coloración de estas permiten evidenciar la morfología que estas pueden llegar hacer tales como cocos, bacilos, espirilos, entre otras estructuras más.

Figura 15: Diferenciación bacterias Gram negativas y Gram positivas.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Aunque la tinción Gram sea una técnica de mucha importancia, para su correcta realización la muestra debió pasar previamente por un proceso de fijación, esto con la finalidad de preservar la arquitectura química y estructural de la célula.

9.2.3.3.1 Protocolo de fijación de muestras.

Para la realización de la fijación de la muestra, se procedió con la metodología propuesta por Jácome et al. (2014), comenzando por la colocación de una pequeña gota de agua sobre el porta objeto seguida de la toma del asa de siembra y realizando la toma de una muestra bacteriana del medio selectivo, una vez tomada a pequeña muestra, la misma es llevada a la gota de agua suspendida sobre el porta objeto y una vez colocada la muestra en la gota se realizó la expansión de la misma, esto con la finalidad de que se tenga un correcto secado, para obtener un rápido secado es opcional el paso del portaobjeto sobre la llama de un mechero, esto procurando evitar el

sobrecalentamiento, puesto que puede provocar el quemado y alteración en la estructura bacteriana.

9.2.3.3.2 Protocolo de Tinción Gram.

Como la tinción Gram es de suma importancia, la efectuación de los procedimientos son de vital importancia para que esta pueda mostrar lo más clara posible la morfología de las bacterias, puesto que los tintes tienen un periodo específico de tiempo en el que deben permanecer sobre la muestra, es así que las tenciones Gram se realizaron de acuerdo al protocolo propuesto por Casasola (2022), mencionado que la tinción Gram se compone por 4 pasos sencillos, comenzado como el primer colorante el cristal violeta, en donde esta se infiltra en la pared y membrana, esto dado su alta afinidad por el peptidoglucano, al transcurso de 2 minutos después de la aplicación, se lava el mismo con agua destilada, se agita suavemente el portaobjeto para eliminar un sobre acceso de agua y una vez culminado el lavado del cristal violeta se coloca una solución de yodo que actúa como un fijador del colorante, esto dado que a la incorporación de la solución de yodo se crea una solución de violeta-yoduro que satura los espacios de peptidoglucano de la pared bacteriana, este proceso da la incorporación de la solución de yodo se lleva por alrededor de 1 minuto.

Con la incorporación de la solución de yodo y al transcurso de un minuto se precede al lavado de la misma con agua destilada, es así que se lava el portaobjeto y se elimina el acceso del agua. Con el uso de alcohol acetona se coloca en el porta objeto, en donde esta destruye las capas lipídicas de las bacterias Gram negativas, provocando que, al perder su capa externa, pierdan también la menor cantidad de peptidoglucano que poseen, seguido de que no puedan retener el

complejo cristal violeta – yoduro y lo pierdan también. Por otra parte, en las bacterias Gram positivas, al tener contacto con el alcohol acetona, este provoca una deshidratación de la pared celular, provocando que las bacterias cierren sus poros y provoque la retención de la solución cristal – yoduro, de esta forma para que este proceso sea efectuado correctamente, el tiempo en el que el alcohol cetona debe permanecer en el portaobjeto van desde los 20 a 30 segundos.

Una vez que el alcohol cetona haya sido lavado correctamente con agua destilada, se procedió al uso de la safranina, esto con el fin de ser un colorante de contra tinción, es decir que, se puedan volver a teñir las bacterias Gram negativas que no lograron la retención del complejo de cristal – yoduro luego de su decoloración, mientras que a las Gram positivas al tener contacto con esta, la misma solo sea incorporada de manera superficial, de tal modo que, al transcurrir 1 minuto de la tinción, se proceda con el lavado del tinte dejando como resultado que las bacterias Gram negativas teñidas del color de la safranina (violeta), mientras que las Gram positivas al tener sus poros cerrados y con el complejo cristal yoduro dentro de estos, se lave la safranina, provocando que las Gram positivas tengan el color del complejo cristal – yoduro (Azul oscuro).

9.2.3.4 Análisis e interpretación de características por tinción.

Con la finalización de la tinción gran a las placas de cada consorcio bacteriano, para el manejo de las observaciones de las placas, se describieron en una tabla Excel, en la cual se establecieron las características de los consorcios según su tinción y estructura.

Tabla 4: Caracterización por tinción y estructura bacteriana

Codigo de placas	Repeticiones	Gram Positivo	Gram Negativos	Cocos	Diplococos	Estreptococos	Bacilos	Diplobacilos	Estreptobacilos	Espiroquetas	Vibriones
T29-MS-MU	R1										
	R2										
	R3										

Elaborado por: Quinatoa K. (2023).

10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

10.1 Caracterización morfológica de consorcios bacterianos.

El análisis de las características morfológicas de los consorcios se desarrolló por medio de diagramas de barras, los mismos que muestra los valores con el mayor porcentaje de criterios por parte de los encuestados, teniendo cada carácter una gama de color distinto con variables que presentan una degradación, esta comparación está enfocada en diferencias morfológicas que posee cada muestra (suelo, hoja y flor) con el mismo medio de cultivo (Mueller, MacConkey, Cetrimide) y con diferente piso altitudinal (2900, 3000 y 3100 msnm).

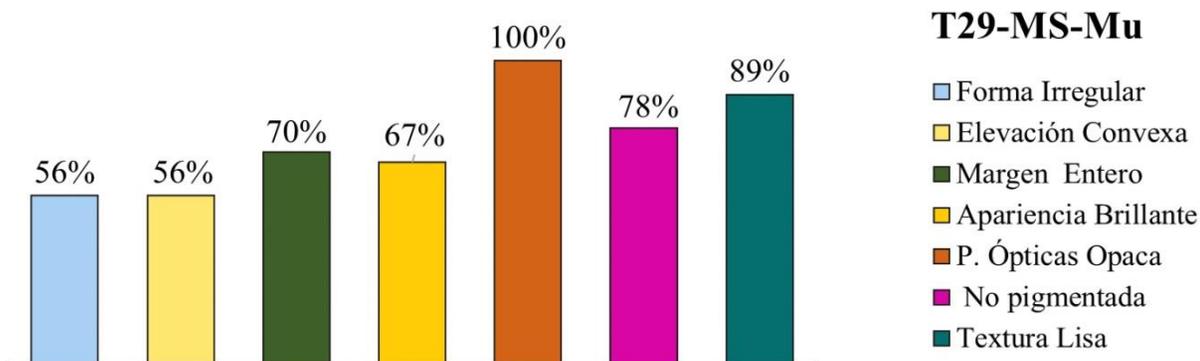
10.1.1 Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

En cuanto a las características morfológicas presentes en este medio y muestra, la forma manifestó una variación, esto al ser los pisos de 3000 y 3100 msnm los que presentaron una forma puntiforme a diferencia de los 2900 msnm que expreso una variación irregular; Con respecto a

la elevación, este carácter fue similar para las alturas de 3000 y 3100 msnm, manifestando una elevación de carácter elevada al contrario de los 2900 msnm que expreso una elevación convexa; Los márgenes mostrados en los tres consorcios presentaron una total desigualdad, teniendo un margen entero el piso 2900 msnm, un margen filamentoso el piso 3000 msnm y un margen ondulado el piso 3100 msnm.

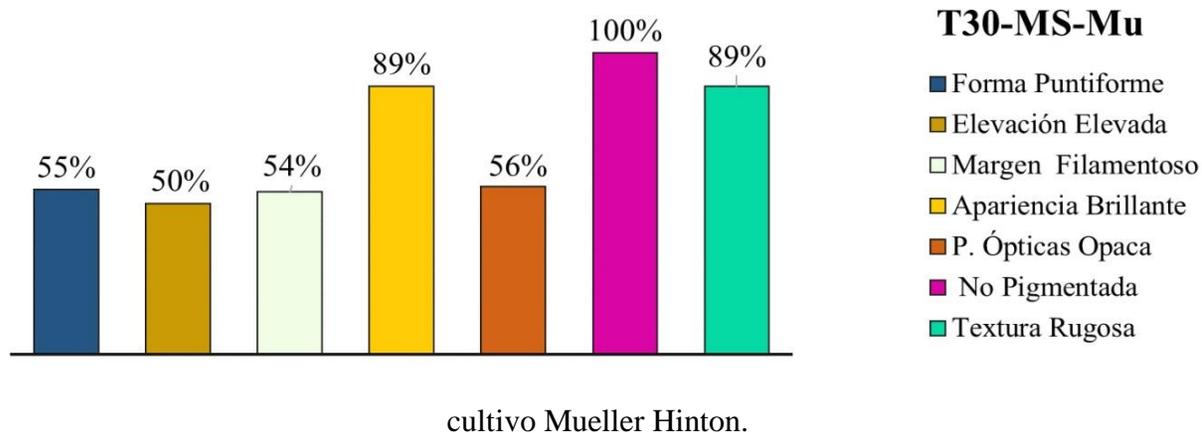
Referente a la apariencia, propiedades ópticas y pigmentación, los caracteres expresados fueron constantes para los tres pisos altitudinales, revelando una apariencia brillante, propiedad óptica opaca y ausencia de pigmentación. Por otra parte, la textura lisa se evidenció únicamente en el piso de 2900 msnm, mientras que a los 3000 y 3100 msnm se expresó una textura rugosa.

Figura 16: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo Mueller Hinton.



Elaborado por: Quinatoa. (2023)

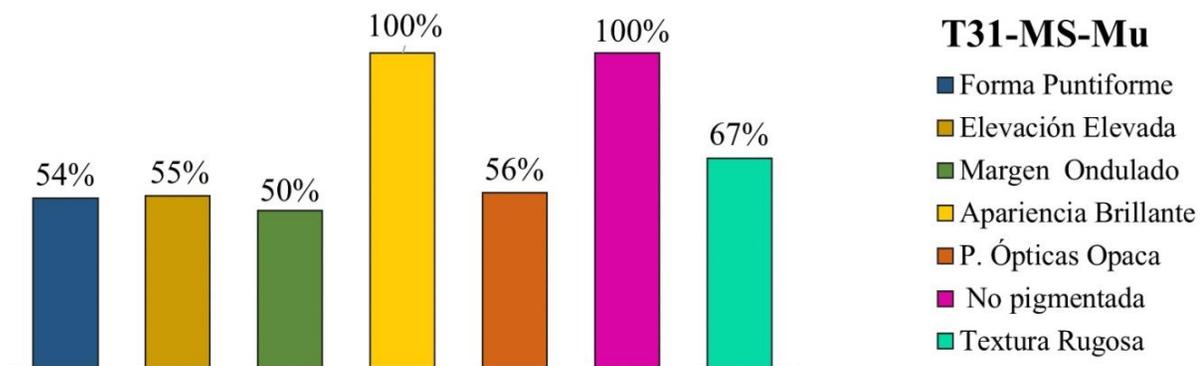
Figura 17: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de suelo en medio de



Elaborado por: Quinatoa. (2023)

Figura 18: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de suelo en medio de

cultivo Mueller Hinton.



Elaborado por: Quinatoa. (2023)

De acuerdo a la descripción de las características morfológicas (Figura 16) (Figura 17) (Figura 18) presentadas en estos consorcios, se resalta las características de una apariencia

brillante, propiedad óptica opaca y falta de pigmentación, según Rodríguez (2016) en las colonias aisladas en muestras de agua y sedimentos obtenidas en las quebradas Espumo y El Carmen del cantón Loja presentaron una forma irregular, pigmentación de color beige, un margen entero y elevación convexa baja, lo que corrobora en cierta parte a las características morfológicas presentadas en estos resultados, de igual manera Calvo & Zúñiga (2010) en su descripción morfológica de consorcios bacterianos extraídos en muestras de suelo en la zona alto andina del Perú expresaron una forma irregular, pigmentación crema con márgenes aserrada, lobuladas, digitiformes y ondulados expresando una similitud con los presentes resultados.

10.1.2 Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

Los consorcios bacterianos presentes en este medio de cultivo manifestaron en su forma una variación, en la cual a los 2900 msnm presentó una forma filamentosa, a los 3000 msnm una forma puntiforme y a los 3100 msnm una forma irregular. En cuanto a la elevación, este mostró una consonancia en los 2900 y 3100 msnm, evidenciando una elevación plana, mientras que a los 3000 msnm se reflejó una elevación elevada. Al igual que la elevación, el margen presentó una homogeneidad en los 2900 msnm y los 3100 msnm, expresando un margen filamentoso, distinto al margen de los 3000 msnm, que reflejó un margen ondulado. La coincidencia es uno de los factores que se manifestó en tres propiedades, siendo la apariencia brillante, la presencia de pigmentación y la textura rugosa los caracteres que presentaron igualdad, al contrario de las propiedades ópticas que únicamente a los 2900 msnm se evidenció una propiedad transparente, a diferencia de los 3000 msnm y 3100 msnm que constataron con una propiedad opaca.

Figura 19: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo MacConkey.

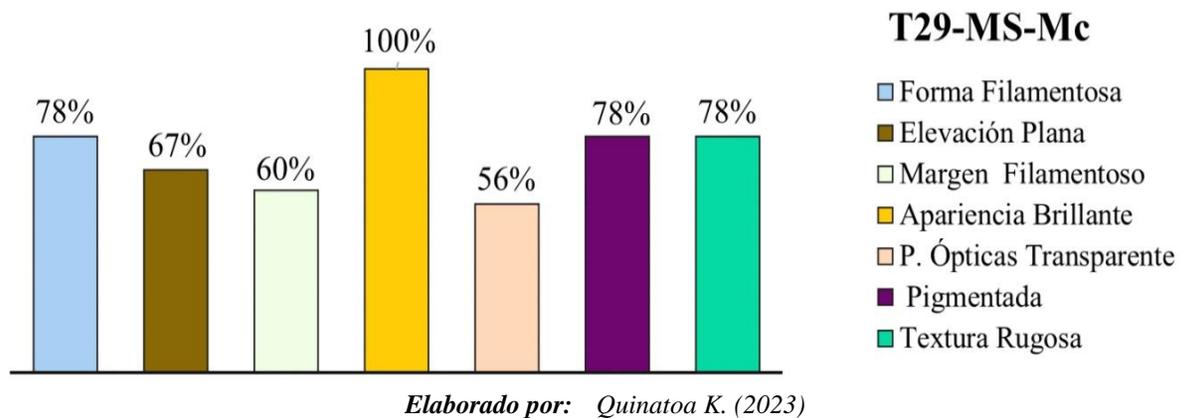


Figura 20: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo MacConkey.

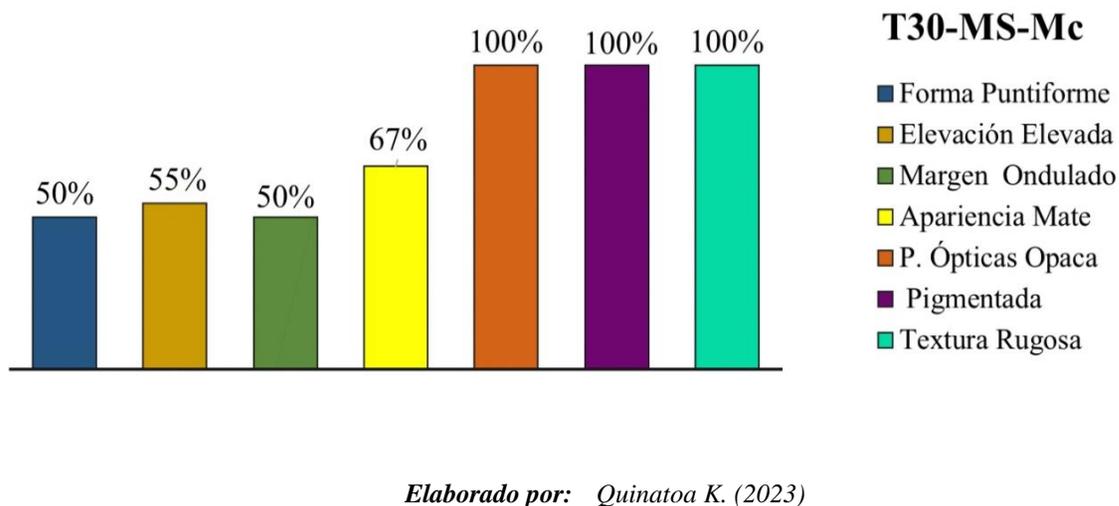
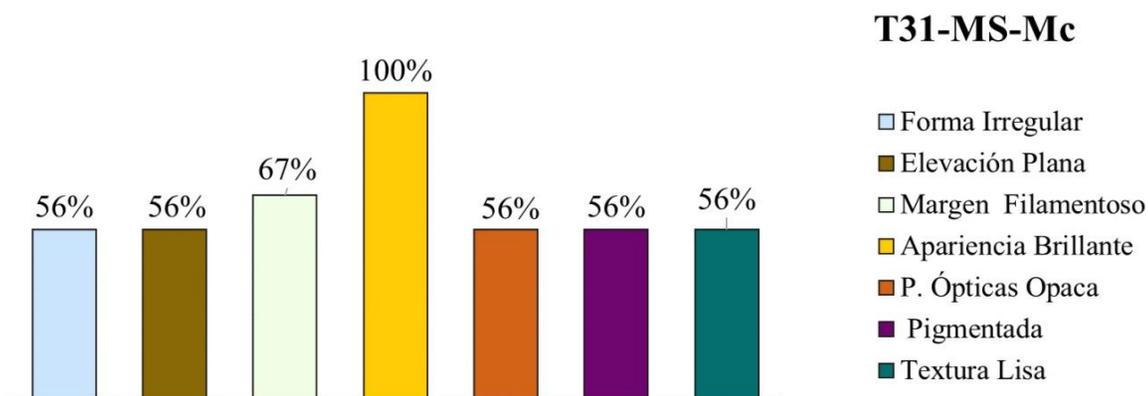


Figura 21: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo MacConkey.



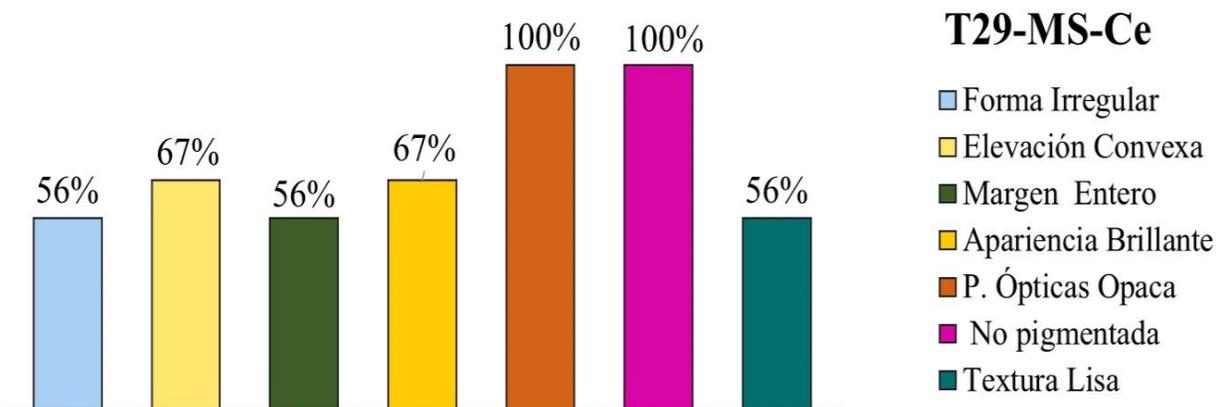
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Las características expresadas en los consorcios bacterianos en estos tres pisos se expresaron una cierta variabilidad morfológica en diferencia a las presentadas en el medio Mueller Himton, de acuerdo las características reflejadas a los 3000 msnm (Figura 20), se asimilan en ciertas variables a las presentadas por parte Benavides López de Mesa et al. (2006) en el que sus muestras de suelos obtenidas en un suelo agrícola (cebolla) en Boyaca, Colombia a una altura de 3030 msnm, reflejaron características similares al expresando una pigmentación rosada, con una elevación plana elevada y propiedades ópticas opacas.

10.1.3 Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

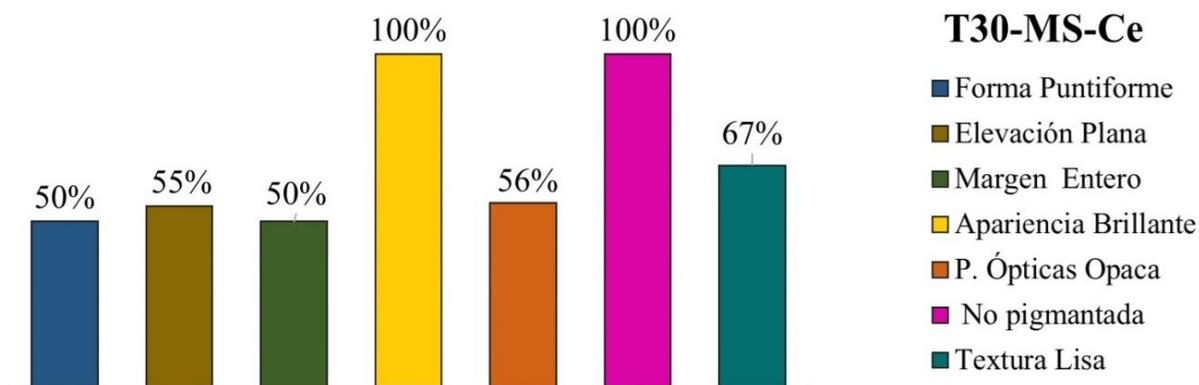
La forma evidenciada en los consorcios mostró que a los 2900 msnm y a los 3100 msnm presentaron una equivalente propiedad, siendo la forma irregular la manifestada, al contrario de los 3000 msnm que reflejó una forma puntiforme. En cuanto a la elevación, los 2900 msnm fue el único que mostró una elevación convexa, al contrario de los 3000 msnm y 3100 msnm que expresaron una elevación plana. En cuanto a la homogeneidad, esta se manifestó en las propiedades de margen, apariencia, pigmentación y textura, reflejando un margen entero, una apariencia brillante, ausencia de pigmentación y textura rugosa, aunque en las propiedades ópticas, en el piso 3100 msnm se constató una propiedad translúcida, opuesto a los 2900 msnm y 3000 msnm que expresaron una propiedad opaca.

Figura 22: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo Cetrimide.



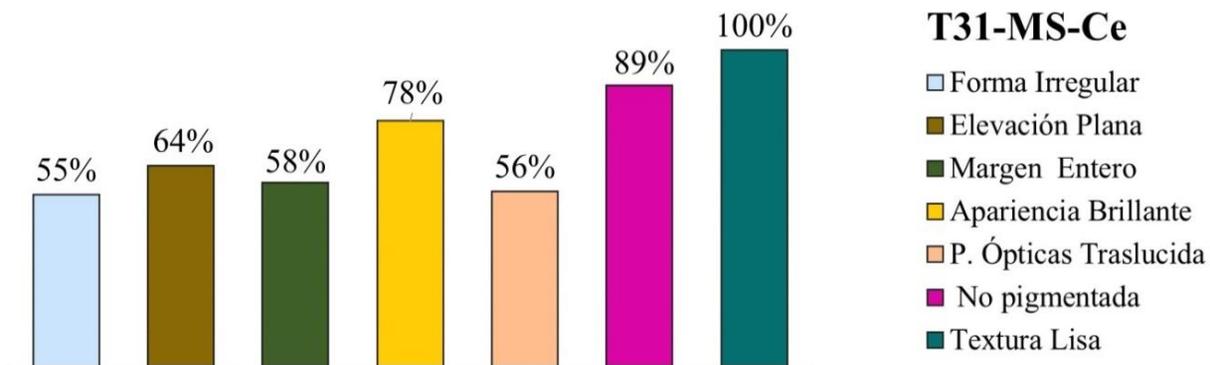
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 23: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo Cetrimide.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 24: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de suelo en medio de cultivo Cetrimide.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Las características presentes en los tres pisos altitudinales presentaron igualdad con respecto a su apariencia, textura lisa y falta de pigmentación; aunque, en los pisos 2900 msnm y

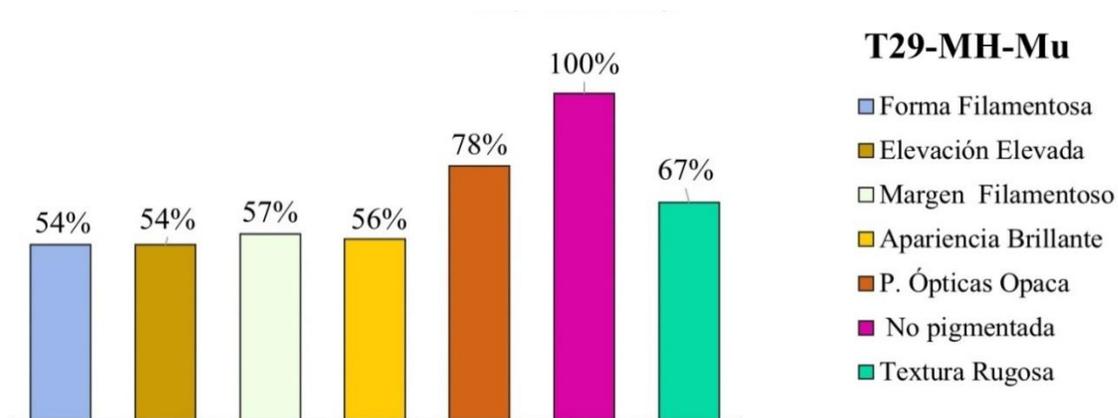
3100 msnm la forma se tornó de manera irregular; las mismas propiedades expresadas por los pisos altitudinales corroboran de cierta forma a las colonias obtenidas por (Mendoza, 2023) en la que sus consorcios provenientes de muestras de suelo netamente agrícola ubicados a 2799 msnm en cantón Quero, Mocha (3280 msnm), Ambato (3500 msnm) y Pillaro (2800 msnm) provincia de Tungurahua, en su mayoría presentaron una forma irregular con márgenes enteros, con textura lisa y apariencia brillante, corroborando de cierto modo a las características reflejadas en la investigación.

10.1.4 Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

Las características presentadas en estos consorcios evidenciaron que, en la forma, a los 2900 msnm evidencio una forma filamentosa, mientras que a los 3000 msnm y a los 3100 msnm reflejaron una forma irregular, distinto a esto, la elevación evidencio que, a los 2900 msnm y a los 3100 msnm su propiedad era elevada, en cuanto a los 3000 msnm reflejaba una elevación plana.

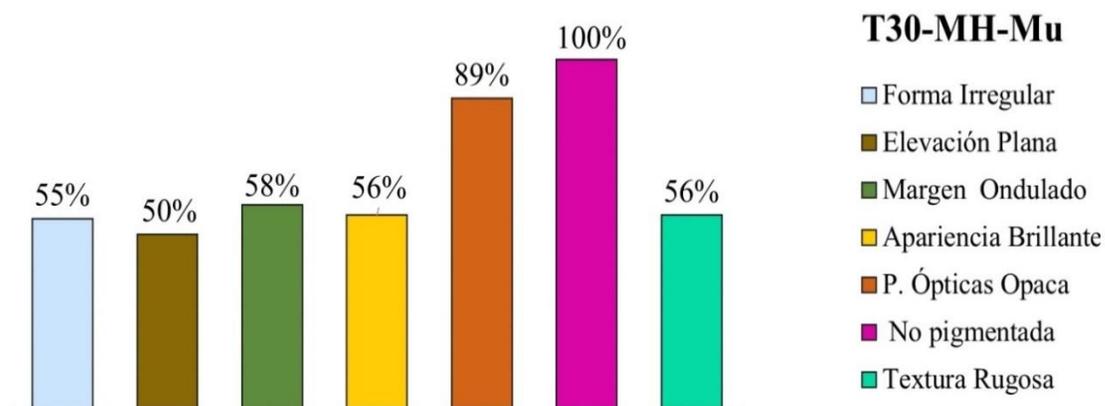
En cuanto el margen, el carácter filamentos estuvo presente en el piso de 2900 msnm, a diferencia de los 3000 msnm y los 3100 msnm que mostraron un margen ondulado. en cuanto la apariencia, propiedad óptica y pigmentación, estas evidenciaron una constante, siendo la apariencia brillante, la propiedad óptica opaca, y una ausencia de la pigmentación. Este no es el caso de la textura, en donde la textura fue lisa únicamente a los 3100 msnm, opuesta a los pisos 2900 y 3100 msnm que reflejaron una textura rugosa.

Figura 25: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Mueller Hinton.



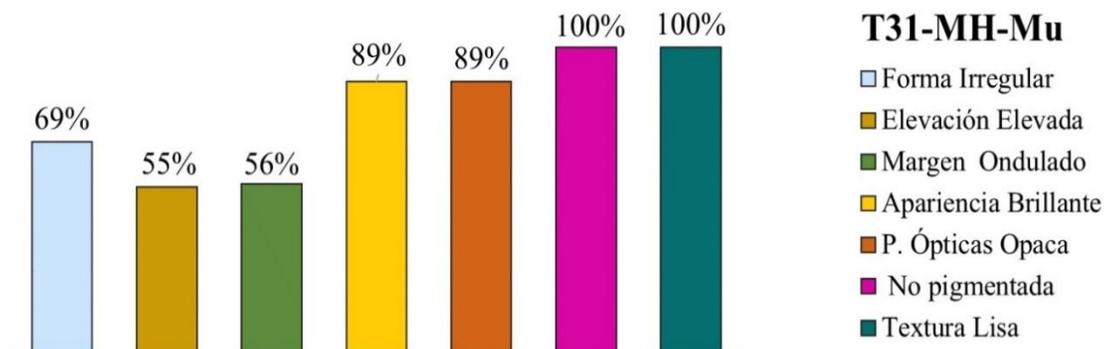
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 26: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Mueller Hinton.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 27: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Mueller Hinton.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

En cierto modo, las características morfológicas expresadas en los diagramas se asimilan a las obtenidas por parte Calle (2021) en la que sus colonias bacterianas provenientes de la microcuenca del Machángara con un rango de altura entre 2400 y 4000 msnm, expresaron en cierta forma propiedades irregulares, falta de pigmentación con coloración crema, superficie plana apariencia opaca y apariencia brillante.

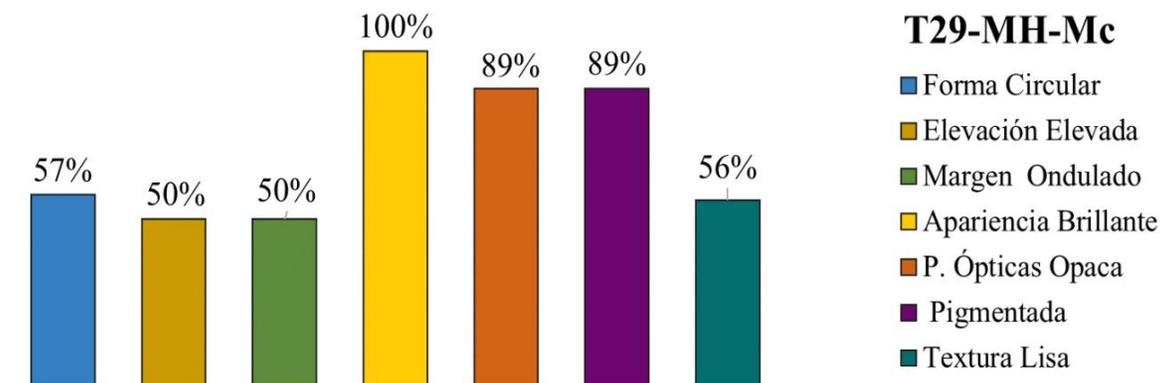
10.1.5 Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

Con respecto a la forma y elevación, estos presentaron una variabilidad casi similar, teniendo una similitud a los 2900 msnm y 3100 msnm. Es así que, en la forma, a los 2900 msnm y 3100 msnm, reflejaron una forma circular, mientras que a los 3000 msnm se evidenció una forma

irregular. En cuanto a la elevación, a los 2900 msnm y a los 3100 msnm se reflejaron con una elevación elevada, en contraste con la elevación a los 3000 msnm que expresó una elevación plana.

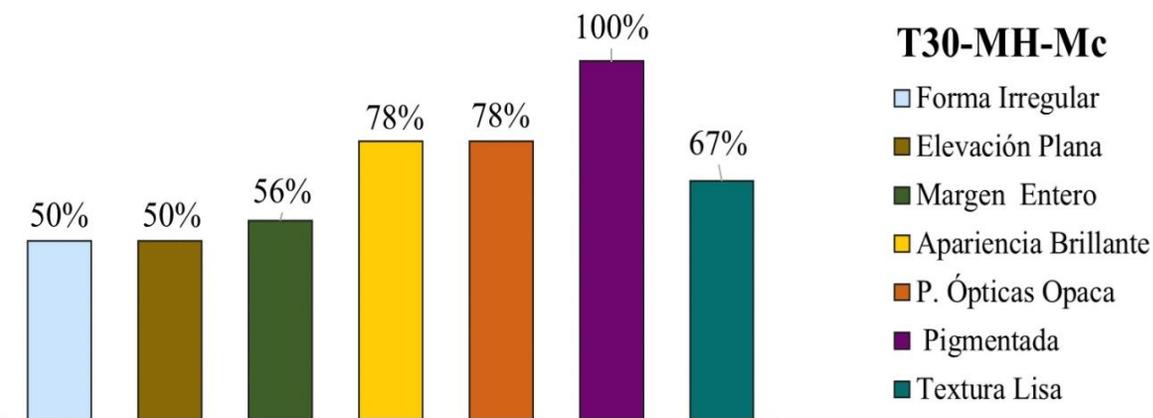
En cuanto al margen, a los 2900 msnm se expresó de forma ondulada, a diferencia de los 3000 msnm y 3100 msnm que evidenciaron un margen entero. En cuanto a la apariencia, propiedades ópticas, pigmentación y textura, presentaron una consistencia en los tres pisos, expresando una apariencia brillante, propiedad óptica opaca, presencia de pigmentación, y con textura lisa.

Figura 28: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo MacConkey.



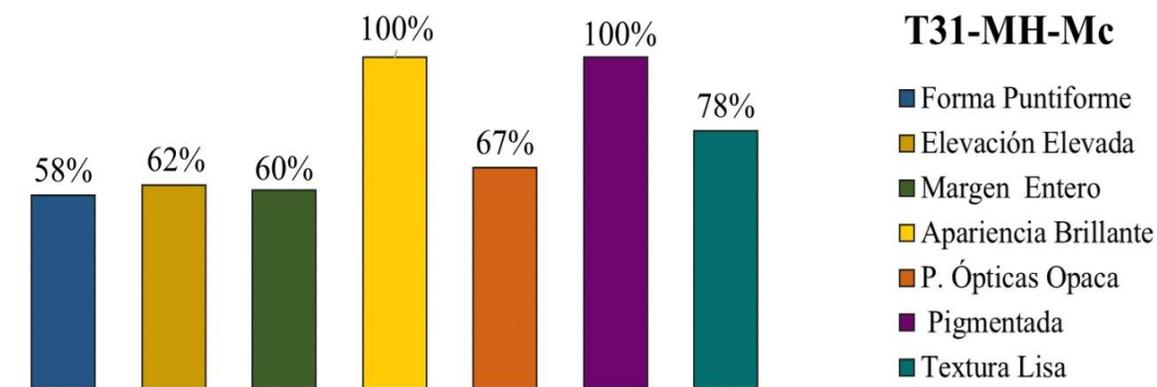
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 29: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo MacConkey.



Elaborado por: Quinatoa K (/2023)

Figura 30: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo MacConkey.

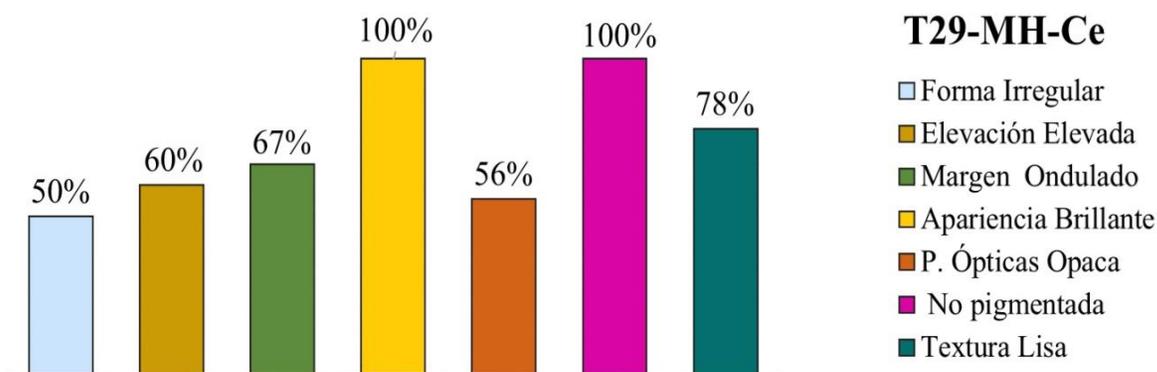


Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

10.1.6 Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

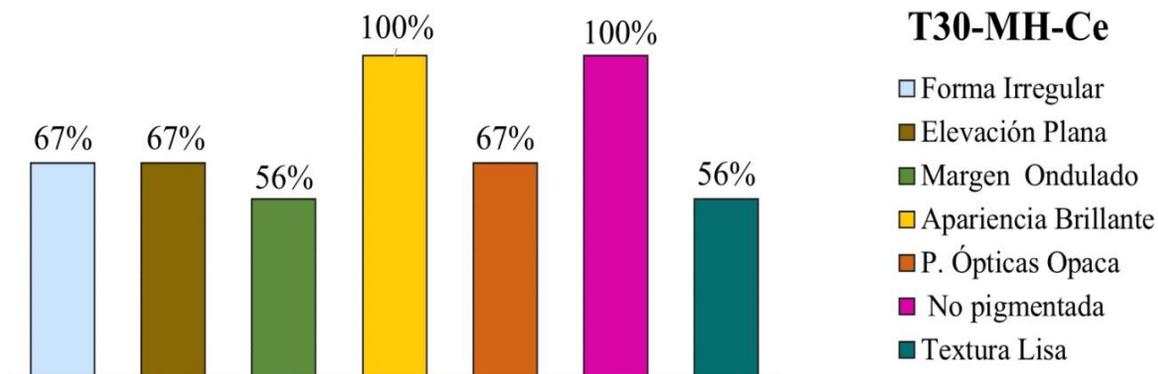
Se puede mencionar que en estos consorcios hubo casi una completa igualdad en sus características morfológicas exceptuando la elevación, en el cual a los 2900 msnm y 3100 msnm evidenciaron una elevación de propiedad elevada, mientras que a los 3000 msnm se expresó una elevación plana, apartando esta característica las demás propiedades evidenciaron una completa homogenización, presentando una forma irregular, margen ondulado, apariencia brillante, propiedad óptica opaca, ausencia de pigmentación y textura lisa.

Figura 31: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Cetrimide.



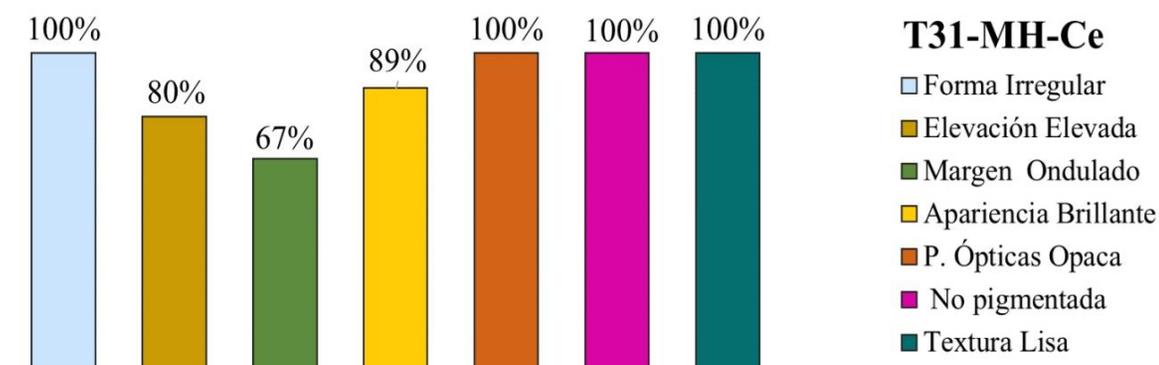
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 32: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Cetrimide.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 33: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de hojas en medio de cultivo Cetrimide.

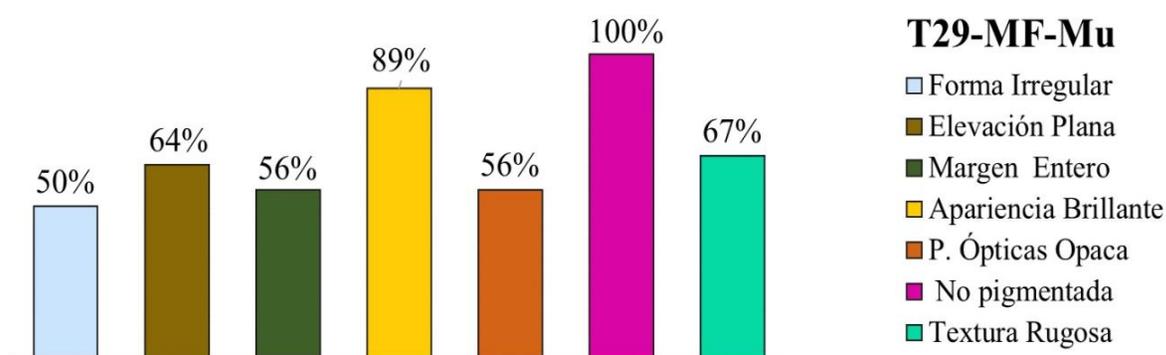


Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

10.1.7 Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

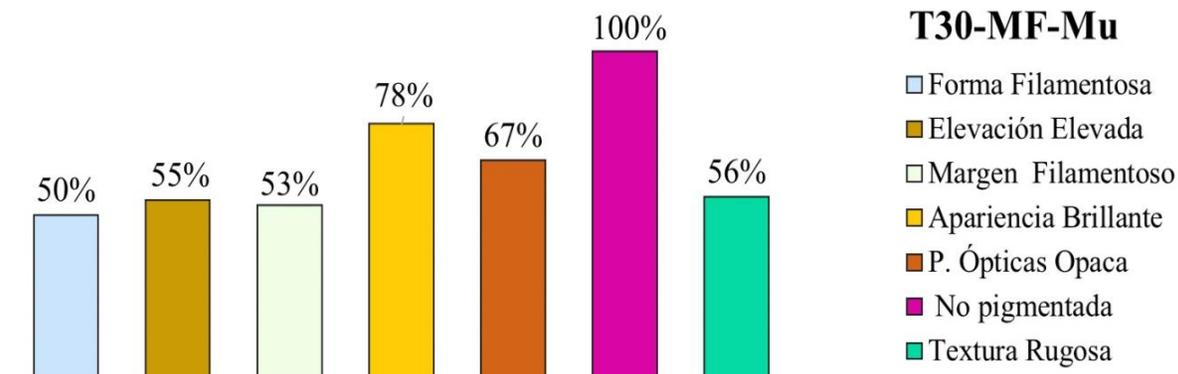
La forma irregular se expresó en los tres pisos altitudinales. En cuanto a la elevación, a los 2900 msnm y los 3100 msnm se mostró una elevación elevada, mientras que a los 3000 msnm se expresó una elevación plana. Con referencia a los márgenes, el carácter entero se reflejó a los 2900 msnm, en los 3000 msnm se mostró un margen filamentososo y a los 3100 msnm uno ondulado. Con referencia la apariencia, propiedad óptica y pigmentación se evidenció una igualdad al evidenciar una apariencia brillante, propiedad óptica opaca y falta de pigmentación, con respecto a la textura, únicamente el piso de 3100 msnm se expresó una textura lisa a diferencia de los 2900 y 300 msnm que expreso una textura rugosa.

Figura 34: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Mueller Hinton.



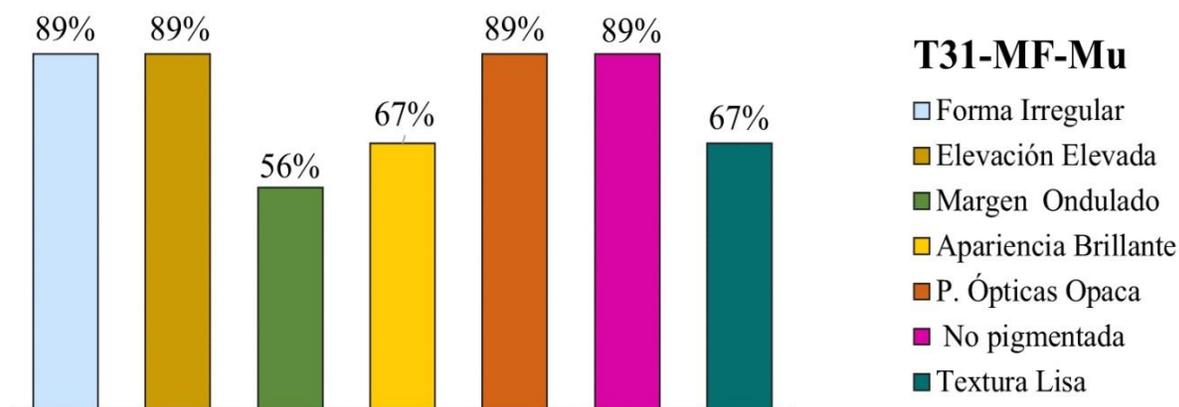
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 35: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Mueller Hinton.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 36: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Mueller Hinton.



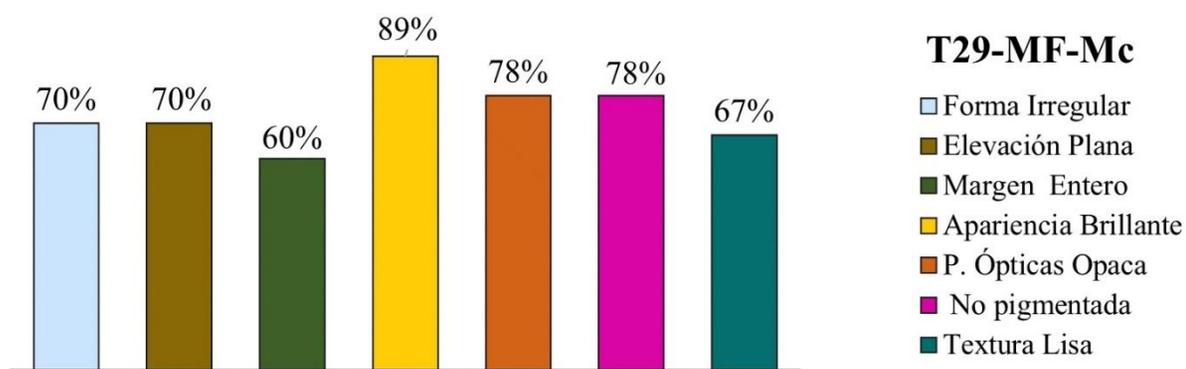
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

10.1.8 Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

Las formas evidenciadas en los tres pisos altitudinales, reflejaron que a los 2900 msnm y a los 3000 msnm reflejaron una forma irregular, mientras que los 3100 msnm se mostró una forma puntiforme, En cuanto a la elevación, margen y textura, estas tuvieron una manifestación similar con la morfología de la forma, puesto que a los 2900 msnm y a los 3000 msnm se expresó una elevación plana, un margen entero y textura lisa, a diferencia de los 3100 que expreso una elevación convexa, un margen ondulado y textura rugosa.

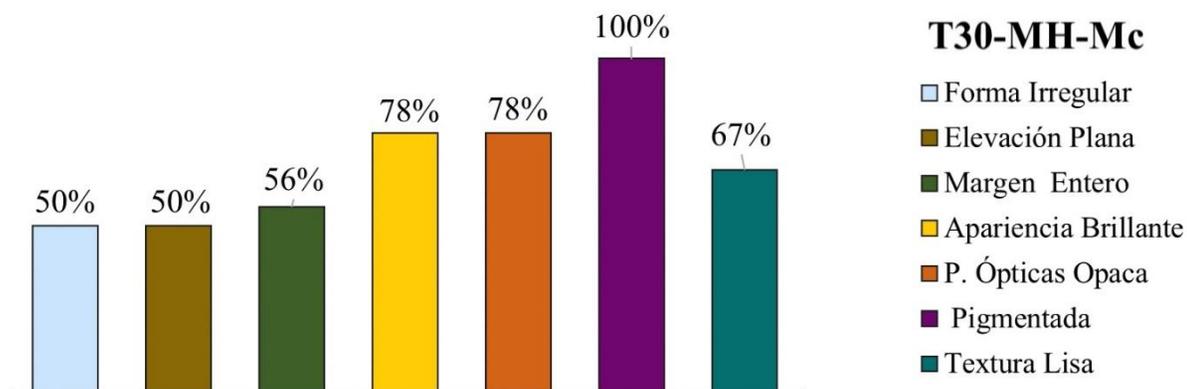
En cuanto a la pigmentación, esta permaneció ausente a los 2900 msnm mientras que a los 3000 msnm y a los 3100 msnm esta tenía presencia. Con respecto a la apariencia y pigmentación, las mismas tenían similitud al expresar una apariencia brillante y apariencia opaca.

Figura 37: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo MacConkey.



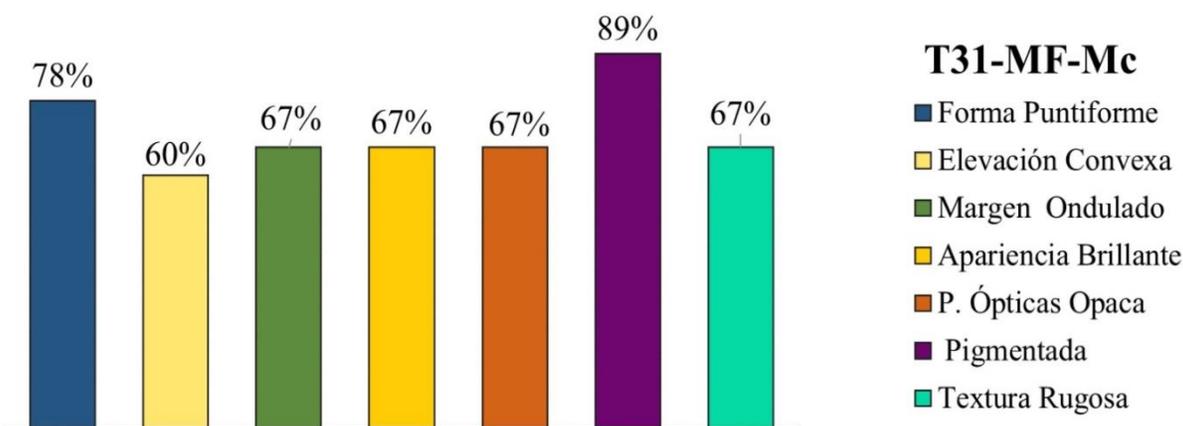
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 38: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo MacConkey.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 39: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo MacConkey.

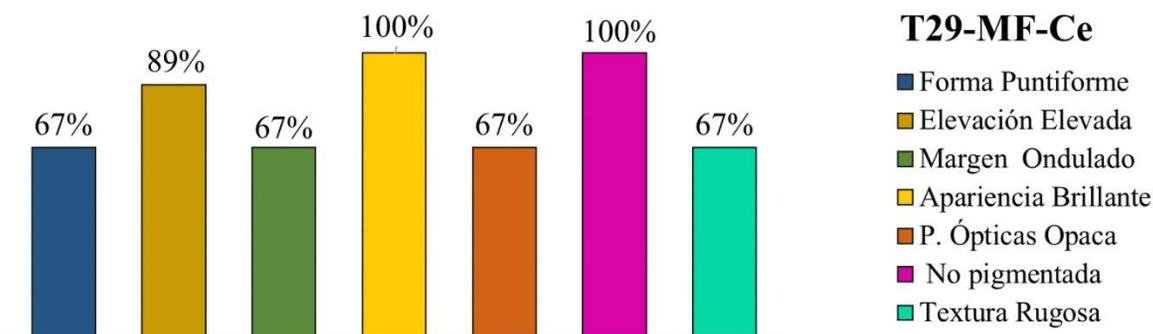


Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

10.1.9 Análisis de características morfológica de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

La forma evidenciada en los consorcios de 2900 msnm y 3100 msnm fueron de propiedad irregular mientras que a los 3000 msnm se expresó una forma puntiforme, En cambio a la elevación a los 2900 msnm se evidencio una elevación elevada, mientras que a los 3000 msnm se evidencio una elevación plana y a los 3100 msnm una elevación convexa. En cuanto al margen, propiedad óptica y apariencia se evidencio una constancia, reflejando un margen ondulado, propiedad opaca y apariencia brillante. A diferencia de este, la pigmentación estuvo presente a los 3100 msnm y ausente a los 2900 msnm y 3100 msnm, y en cuanto a la textura lisa se mostró únicamente a los 3000 msnm, mientras que a los 2900 msnm y a los 3100 msnm se reflejó una rugosa.

Figura 40: Características morfológicas a 2900 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Cetrimide.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 41: Características morfológicas a 3000 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Cetrimide.

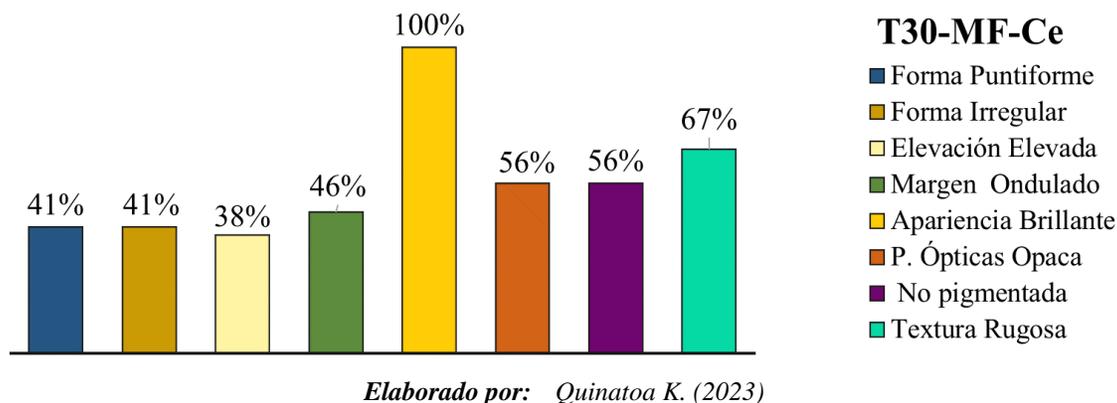
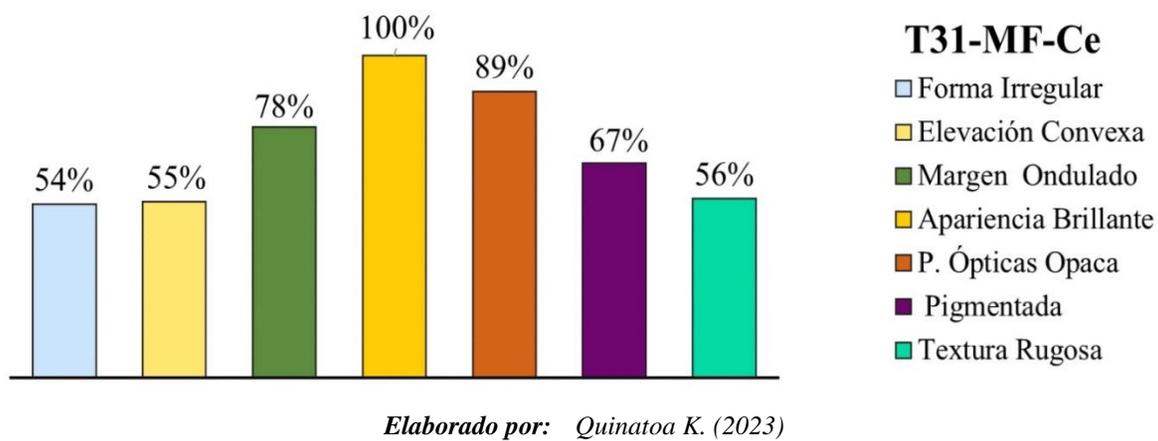


Figura 42: Características morfológicas a 3100 msnm, en muestra de flores en medio de cultivo Cetrimide.



10.2 Análisis e interpretación de características de consorcios bacterianos por Tinción.

El análisis e interpretación por tinción Gram a cada consorcio bacteriano se realizó en tres diagramas, uno representando el porcentaje de influencia de bacterias Gram negativas como de bacterias Gram positivas, junta a esta se reflejan dos gráficos de barras según el tipo de bacteria (Gram negativa o Gram positiva) representando el porcentaje de bacterias según su forma.

10.2.1 Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

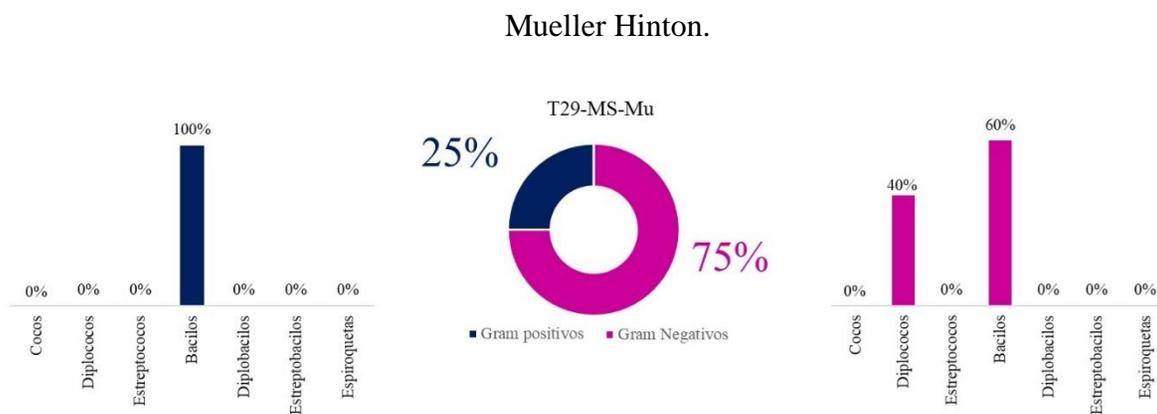
Con respecto a la influencia de las bacterias Gram positivas y negativas, se determinó que en los pisos de 2900 y 3000 msnm la influencia de bacterias Gram negativas es mayor que las positivas y con una igualdad de influencia de estas en el piso 3100 msnm para muestras de suelo.

En cuanto a la forma de las bacterias, se notó que en las bacterias Gram positivas la forma de bacilos es notoria para los tres pisos altitudinales, esto con la diferencia que a los 2900 msnm el 100% de las bacterias expresaron esta forma, contrario a los 3000 msnm en la cual la mitad de las bacterias mostraron dicha forma mientras que la otra mitad evidencio una forma de diplo bacilos, en cuanto a los 3100 msnm la propiedad de bacilos solo se evidenció en un 25%, en tanto al 75% que evidencio una forma de estrepto bacilos.

Con respecto a la forma de las bacterias Gram negativas, hubo una mayor una influencia de las bacterias en forma de bacilos en los tres pisos altitudinales, con la diferencia que a los 2900

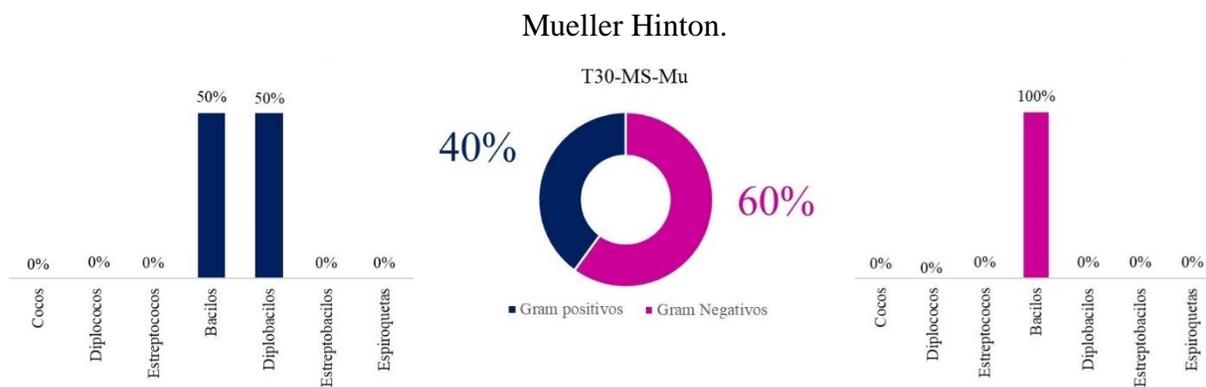
msnm se evidenció un 40% de bacterias diplococos y a los 3100 msnm un 33% de bacterias con forma de estreptobacilos.

Figura 43: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo



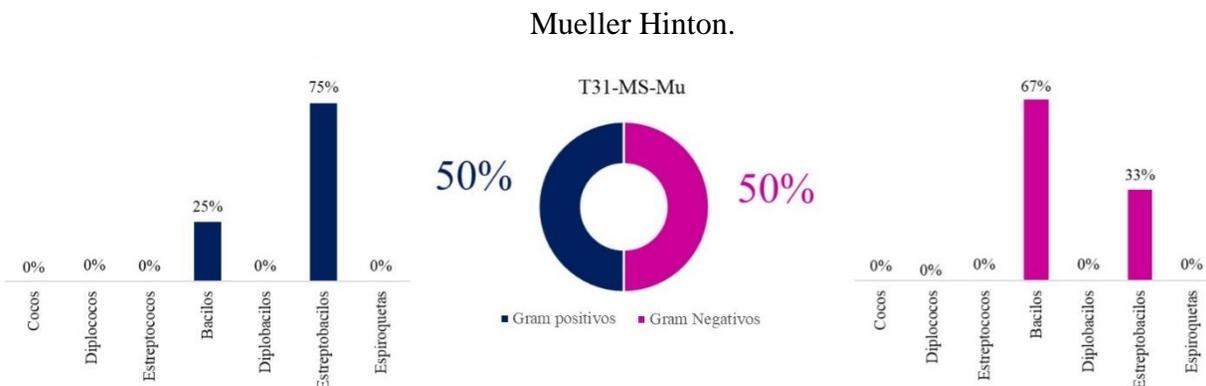
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 44: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 45: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Las características presentes en las tinciones Gram reflejaron en su mayor parte una tendencia al presentar bacterias Gram negativas, que de acuerdo a Díaz & Estrada (2018), evidencia similares resultados en sus 33 unidades formadoras de colonias (UFC), extraídas de muestras de suelo en ecosistemas glaciares del Chimborazo, Cotopaxi y la Antártid; presentando únicamente en una UFC bacterias Gram positivas. De acuerdo con Martinko et al. (2004), menciona que la tendencia a la coloración de safranina se debe a la capa delgada de peptidoglucano presente en la pared celular, la misma que varía dependiendo su grosor.

10.2.2 Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

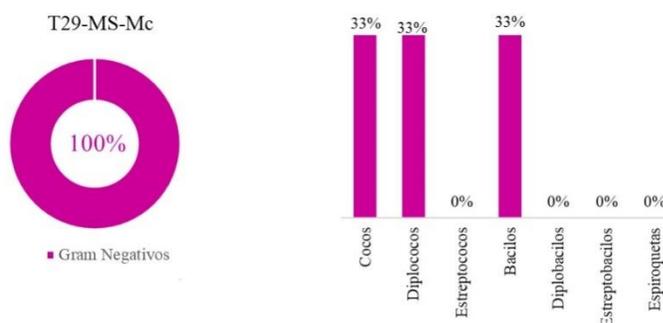
Las tinciones Gram, expresaron que a los 2900 msnm el 100% de las bacterias son Gram negativas en tanto que a los 3000 msnm y a los 3100 msnm los consorcios bacterianos presentaron una igualdad, teniendo un 50% en bacterias Gram positivas y un 50% de bacterias Gram negativas.

En cuanto a la forma de las bacterias Gram positivas, el carácter de bacilos se presentó en los pisos de 3000 y 3100, msnm con la diferencia de que a los 3100 msnm el 50% de las bacterias fueron estreptobacilos mientras que el restante son bacilos.

Con respecto a las bacterias Gram negativas, los tres pisos evidenciaron bacterias con forma de bacilos, teniendo un 100% de influencia en los pisos de 3000 y 3100 msnm, en tanto que a los 2900 msnm el 33% mostraron una forma de coco, el 33% una forma de diplo cocos y el sobrante una forma de bacilos.

Figura 46: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo

MacConkey.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 47: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo

MacConkey.

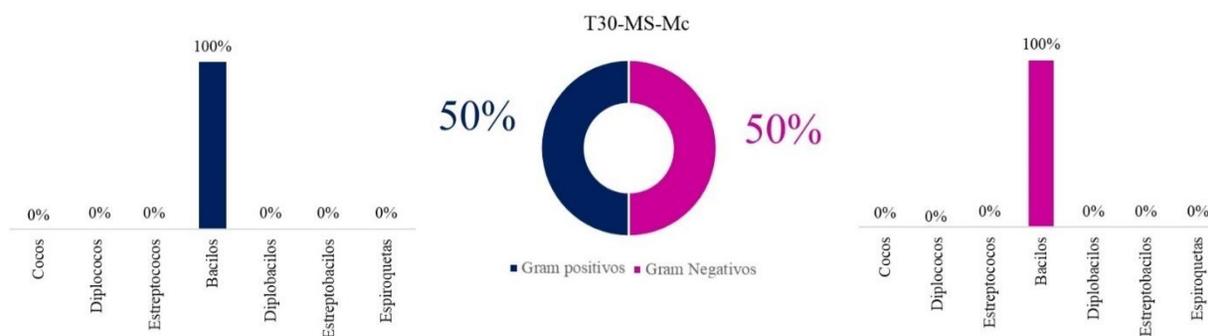
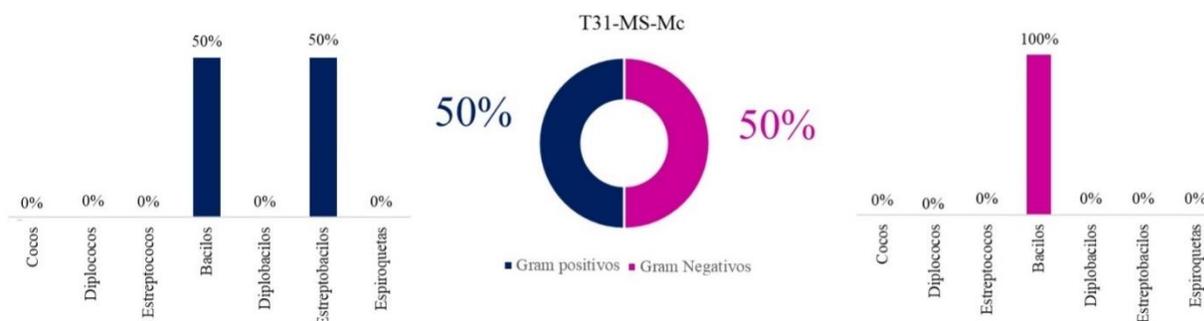


Figura 48: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo MacConkey.

Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

En el piso altitudinal 2900 msnm se evidenció solo el desarrollo de las bacterias Gram negativas, con un porcentaje homogéneo en sus formas de cocos, diplococos y bacilos, de este



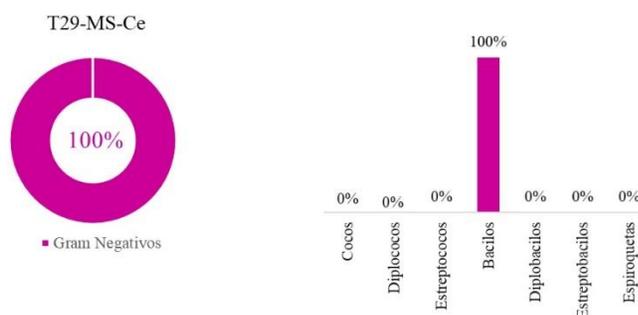
modo, se entiende que hay una posibilidad que en un entorno se puede tener presencia en gran parte de bacterias Gram negativas, corroborando en cierta parte a los resultados expuestos, Hernandez-Angel et al. (2020), quién menciona que en sus pruebas de tinción en bacterias extraídas de muestras de suelo de la zona norte de Antioquia, alrededor del 80 % de sus características reflejaron una tendencia a la coloración de safranina; es decir, a bacterias Gram negativas con formas de cocos y bacilos.

10.2.3 Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de suelo en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

En referencia a la tinción de las bacterias, se constato una mayor presencia de bacterias Gram negativas en los tres pisos, teniendo un 100% de estas a los 2900 msnm y un 67% a los 3000 y 3100 msnm respectivamente.

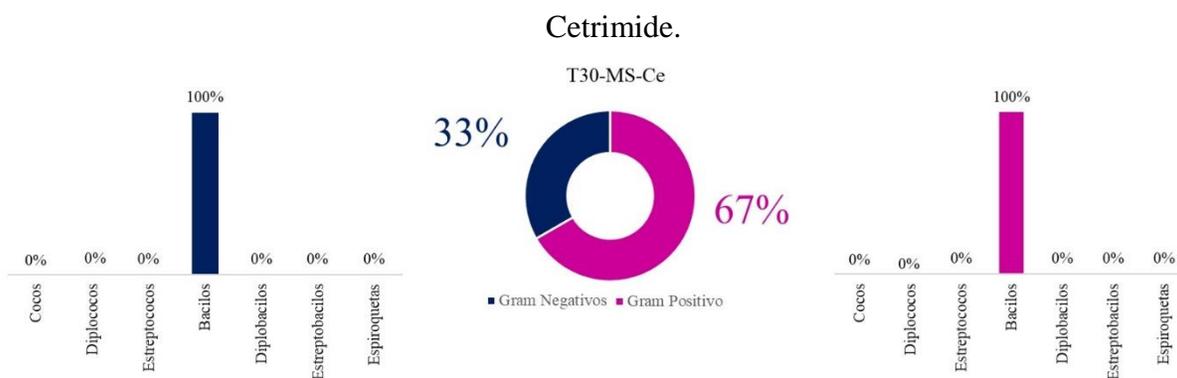
Con respecto A la forma expresada en las bacterias Gram positivas, el bacilo fue representativo para los 3000 msnm con un 100% de incidencia, a lo contrario que a los 3100 msnm que fue expresado con un 50% de estos, siendo bacterias diplococos el restante; A diferencia de esto las bacterias Gram negativas evidenciaron en sus tres pisos altitudinales un 100% de influencia de bacterias en forma de bacilos.

Figura 49: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo Cetrimide.



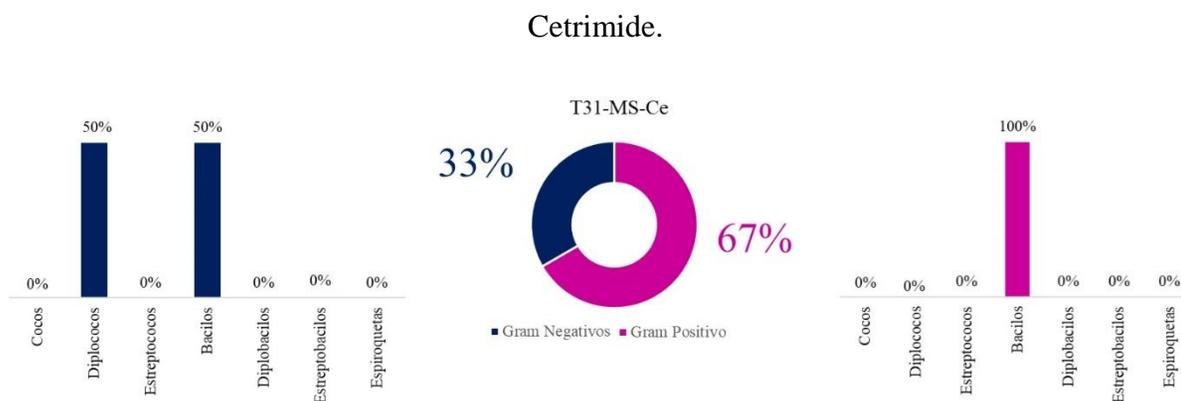
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 50: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 51: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de suelo, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

En las tinciones presentadas en los pisos altitudinales se refleja la notable ocupación de bacterias Gram negativas con respecto a las positivas, de la misma manera, al completo desarrollo de las bacterias con forma de bacilos en las mismas, de acuerdo a Calvo & Zúñiga (2010) resalta la influencia notoria de bacterias Gram negativas, puesto que a sus muestras obtenidas de la rizosfera del cultivo de papa en el departamento de Huancavilca y Puno, identifico el género *Bacillus* bacterias Gram negativas en forma de bacilo, que constituía un grupo importante y grande,

Según Calvo & Zúñiga (2010) resalta que este grupo posee mecanismos para asegurarse de la supervivencia ante condiciones físicas desfavorables.

10.2.4 Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

La tinción Gram expuso que en el piso de 3100 msnm el 100 % de las bacterias presentes son Gram negativas, mientras que a los 3000 msnm la presencia de bacterias Gram negativas y positivas fue de 50%, contrario a los 2900 que reflejo una presencia de 75% de bacterias Gram negativas mientras que el 25% fueron son Gram positivas.

Sobre las bacterias Gram positivas que presentaron los pisos de 2900, y 3000 msnm, los estreptobacilos fueron presentes en estos dos pisos, teniendo a los 2900 msnm una completa influencia por estas bacterias, a diferencia de los 3000 msnm que reflejo variabilidad al evidenciar bacterias con forma de cocos, bacilos y estreptobacilos.

En referente a las bacterias Gram negativas, los pisos de 2900 y 3100 msnm expresaron un 100% de influencia de bacilos, al contrario de los 3000 msnm que revelaron una influencia mayoritaria por cocos con el 50%, bacilos con 25% y estreptobacilos con 25%.

Figura 52: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo

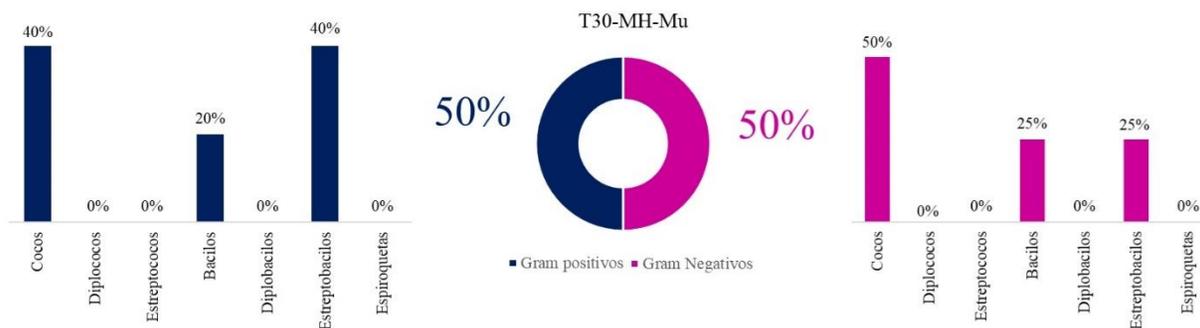
Mueller Hinton.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

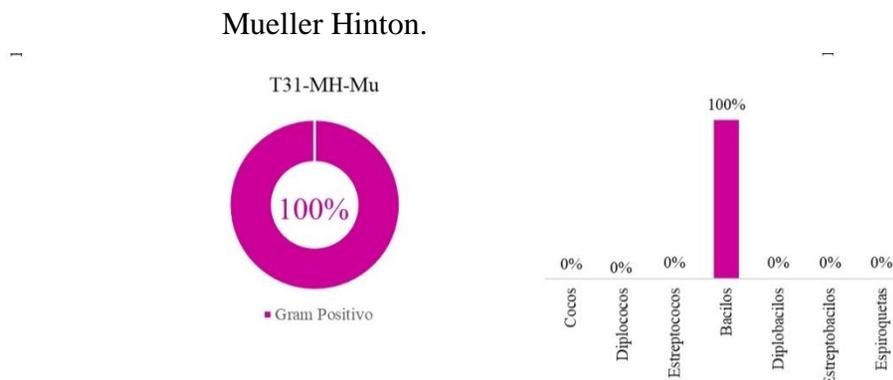
Figura 53: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo

Mueller Hinton.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 54: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Las placas, a los 3100 msnm, expresaron una tendencia a la tinción de bacterias Gram negativas al 100 %. De acuerdo con Garcés et al. (2017), las tinciones Gram realizadas a partir de un biofertilizante MONIBAC en medios de cultivo PDA y Mueller Hinton, presentaron el 100% de bacterias Gram negativas.

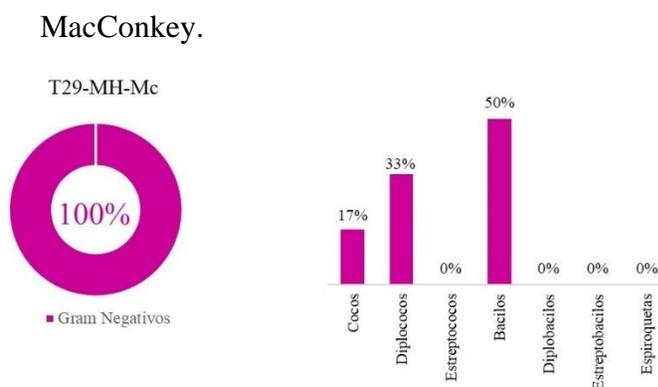
10.2.5 Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

La tinción Gram en los pisos 2900 y 3100 msnm evidenció la mayor presencia de bacterias Gram negativa con 100% y 75% respectivamente, por otra parte, a los 3000 msnm se constató una igualdad del 50% entre estos dos tipos de bacterias.

En cuanto a las bacterias Gram negativas, se manifestó cierta diferencia, esto por el hecho de que a los 3000 msnm las bacterias evidenciaron formas de cocos y estreptobacilos diferentes a los 3100 msnm que expreso 100% una forma de bacilos.

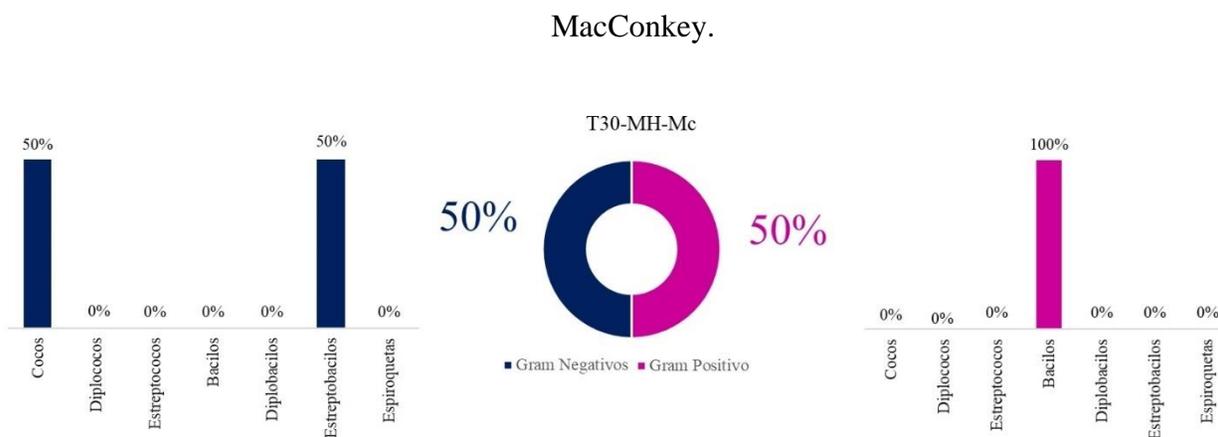
En tanto a las bacterias Gram negativas la influencia de los bacilos es notoria para los pisos 3000 y 3100 msnm esto debido a su presencia a un 100%, por otra parte, a los 2900 msnm los bacilos ocupan un 50% de incidencia junto a bacterias cocos y diplococos con un 25% de presencia cada uno.

Figura 55: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

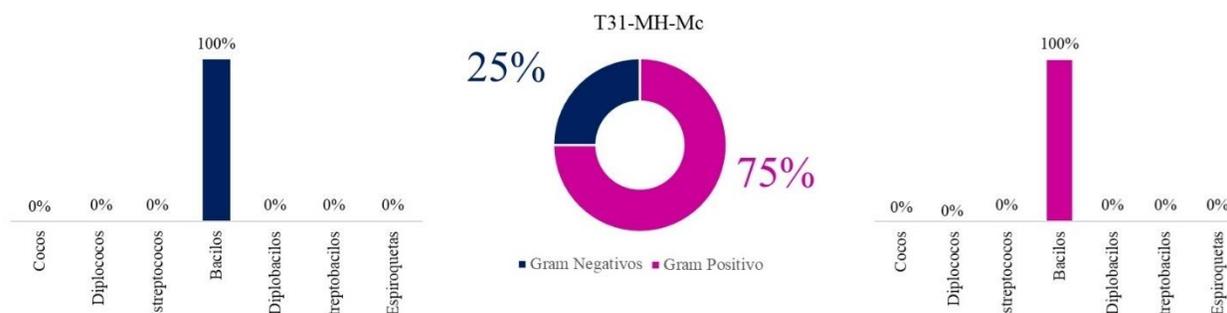
Figura 56: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 57: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo

MacConkey.



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

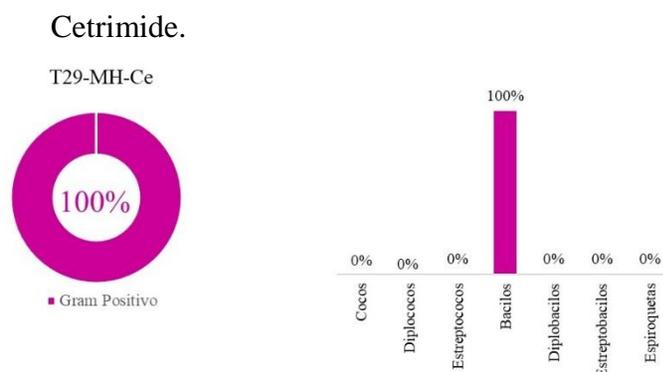
Las tinciones presentadas en las placas de los tres pisos altitudinales, reflejaron una tendencia a tornarse en su mayoría al color de la safranina (violeta), debido a que las bacterias aisladas son pertenecientes a las Gram negativas. Becton Dickinson, (2014) explica que el medio de cultivo MacConkey es un medio ligeramente selectivo, dado por la baja concentración de sales biliares que colaboran en cierta parte a la inhibición de organismos (bacterias) Gram positivos, teniendo un desarrollo y crecimiento de las Gram negativas, de este modo, se corrobora en cierto modo a la situación presentada en las placas tinturadas en la investigación.

10.2.6 Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de hojas en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

La tinción Gram reflejó completa presencia de bacterias Gram negativas en los pisos 2900 y 3000 msnm, de la misma manera a los 3000 msnm, con la diferencia de que tiene un 25% de influencia de bacterias Gram positivas.

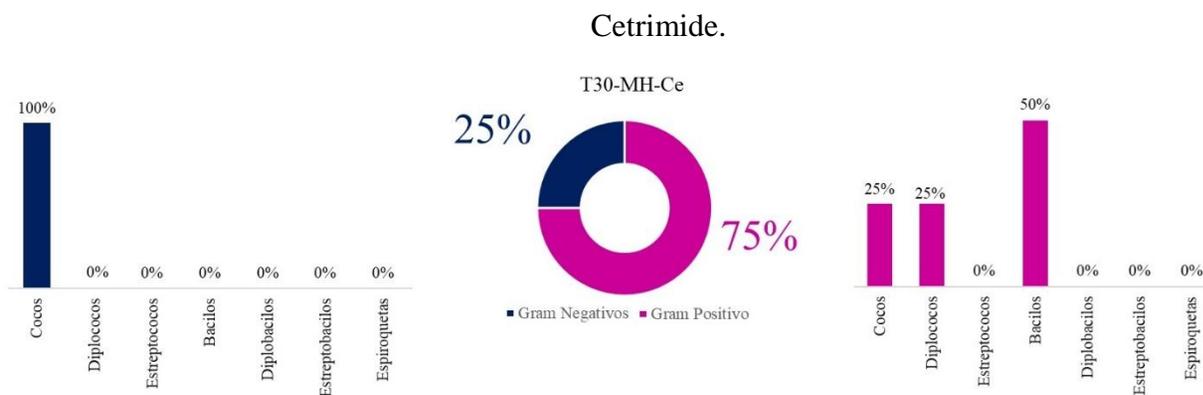
En cuanto a la forma de las bacterias Gram positivas presente únicamente a los 3000 msnm, la forma con mayor influencia sobre este fueron los cocos. Por otro lado, las bacterias Gram negativas presentaron un 100% de bacilos a los 2900 msnm y 3100 msnm, en tanto que a los 3000 los bacilos ocuparon un 50% seguido de los cocos y diplococos, cada uno con presencia del 25%.

Figura 58: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 59: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 60: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de hojas, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

La presencia de bacterias Gram negativas es notoria para los pisos 2900 y 3100 msnm y con un porcentaje menor de Gram positivas a los 3000 msnm, de acuerdo a Biritania, (2013) menciona que el medio Agar Cetrimide fue diseñado para el aislamiento de bacterias Gram negativas, en especial en *Pseudomonas aeruginosa*, este medio es utilizado muestras clínicas como no clínicas, y de cierto modo, es un factor limitante para el crecimiento de bacterias Gram positivas en esta investigación.

10.2.7 Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Mueller Hinton en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

Las tinciones expresadas en estos consorcios, tanto para las bacterias Gram negativas como positivas, reflejaron un valor del 50% cada uno a los 2900 y 3100 msnm, contrario a los 3000 msnm que expresó una mayor influencia por las bacterias Gram positivas con un 60% contrario a los 40% expresados en las Gram negativas.

En referencia a las bacterias Gram positivas, a los 2900 msnm se expresaron dos formas con un 50% cada una, siendo bacilos y estreptobacilos respectivamente, por lo contrario, a los 3000 msnm se mostró una cierta variabilidad, expresando 4 variables de forma con una mayor influencia de estreptobacilos con un 50% y formas como cocos, diplococos y estreptococos con un 17% de influencia cada uno.

En cuanto a las Gram negativas, la presencia de bacilos es notoria en los tres pisos, de tal manera que a los 3100 msnm el 100% de capacidad es completamente expresado por esta forma. Por otra parte, a los 2900 msnm y a los 3000 msnm se mostró un paralelismo en presencia de bacilos y estreptobacilos.

Figura 61: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo

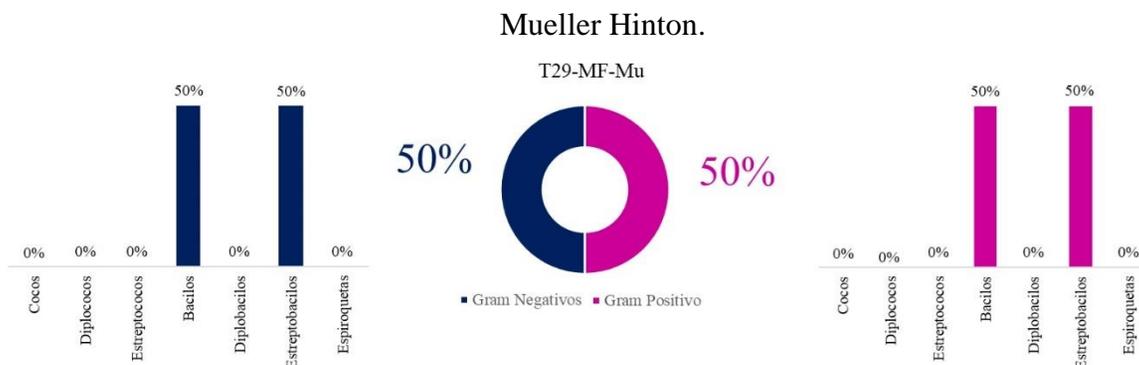
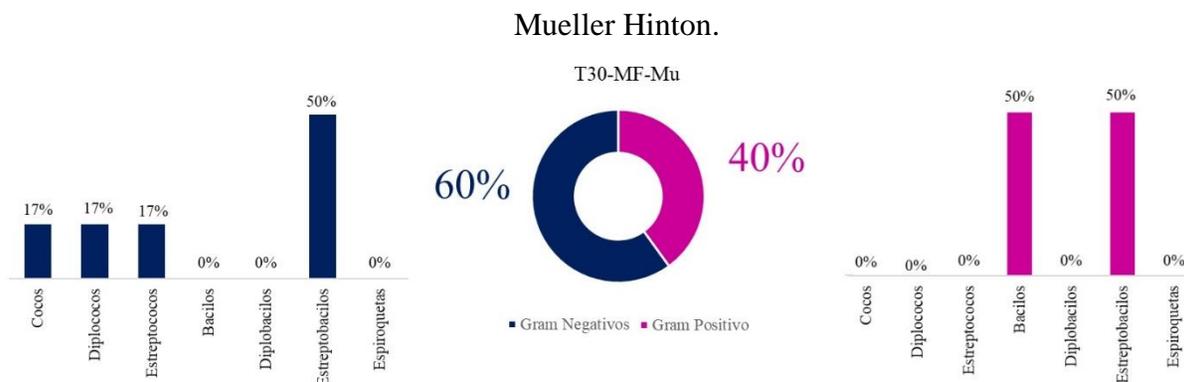
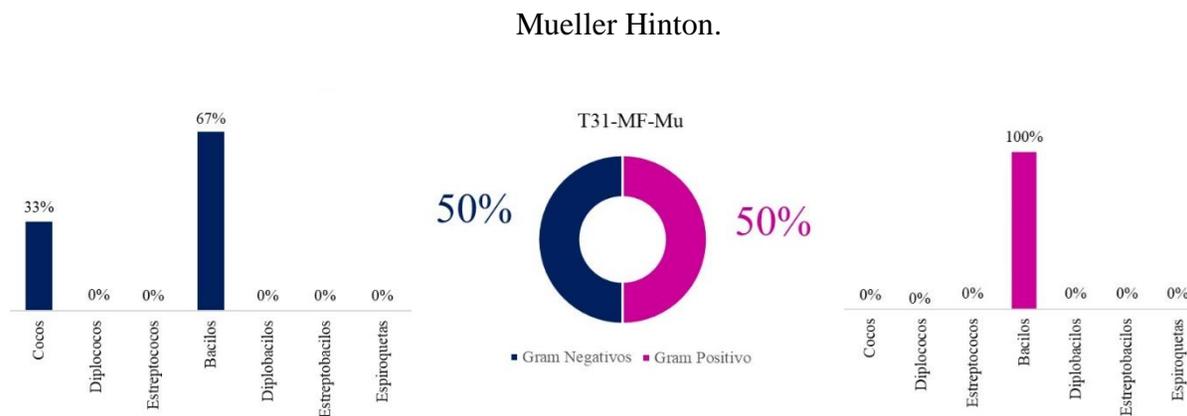


Figura 62: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 63: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

La presencia de bacterias Gram negativas como positivas en los tres pisos altitudinales es de cierto modo igualitaria y adicionalmente las bacterias presentan una variabilidad en sus formas, Deshawal, (2013) señala que de cierto modo el medio de cultivo Mueller Hinton es un medio no selectivo, permisible al crecimiento de varios organismos lo que no afecta de forma directa la presencia de bacterias Gram negativas como positivas y permitiendo la presencia de un gran número de formas.

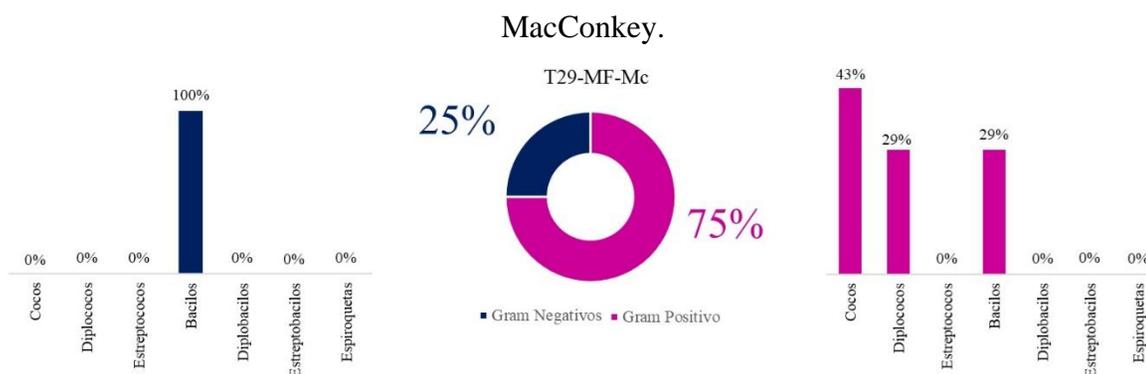
10.2.8 Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo MacConkey en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

Las tinciones reflejaron que en los pisos 2900 y 3000 msnm es mayormente influenciada por bacterias Gram negativas con un 75 % y 60 % en ese orden, esto a diferencia de los 3100 msnm que los Gram positivos se expresaron con un 60% de influencia en los consorcios.

La influencia de los bacilos en las tres alturas es considerable, siendo los pisos 2900 y 3100 msnm los más influyentes por estos con un 100% de capacidad. A lo contrario, a los 3000 msnm los bacilos ocuparon un 67% de espacio siendo los estreptobacilos el complementario.

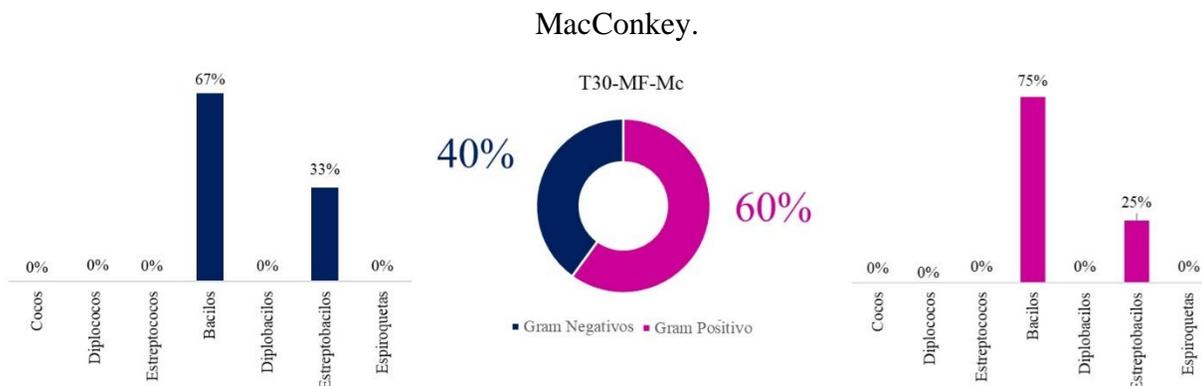
En tanto a las Gram negativas, la influencia de los bacilos es notoria en los tres pisos, teniendo una influencia de 100% a los 3100 msnm y 75% a los 3000 msnm, siendo su complementario las los estreptobacilos, En cuanto a los 2900 msnm los bacilos pasan a ser inferiores en su presencia dado que su presencia es del 29% al igual que los diplococos, siendo los cocos con mayor presencia con un 49% de influencia.

Figura 64: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo



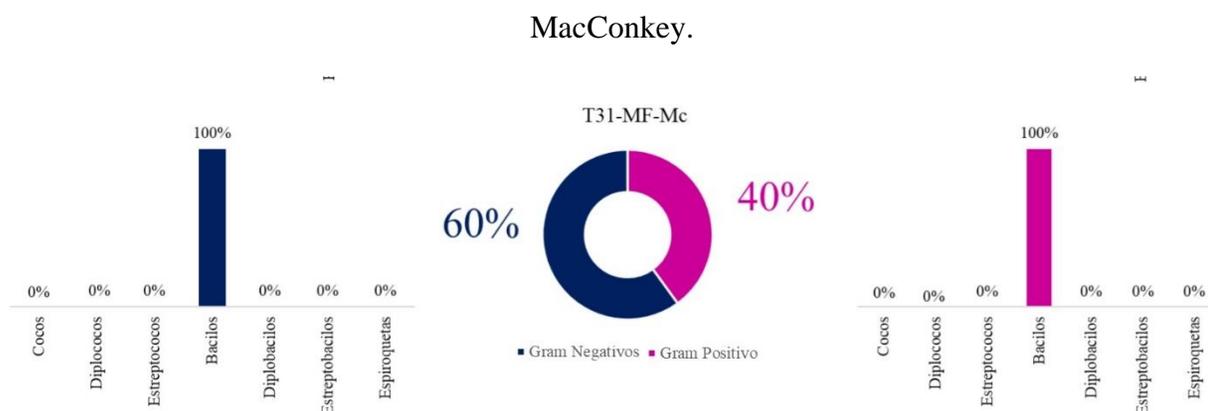
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 65: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 66: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo



La tendencia de las bacterias Gram negativas es específico en los pisos 2900 y 3000 msnm que según ULPGC, (2023) menciona que en el medio MacConkey la inhibición del crecimiento de las Gram positivas se da por las sales biliares y el cristal violeta que son parte del impedimento del crecimiento de las bacterias Gram positivas; aunque, Becton Dickinson, (2014) explica que pese que las sales biliares son parte de la falta de crecimiento de los organismos Gram positivos,

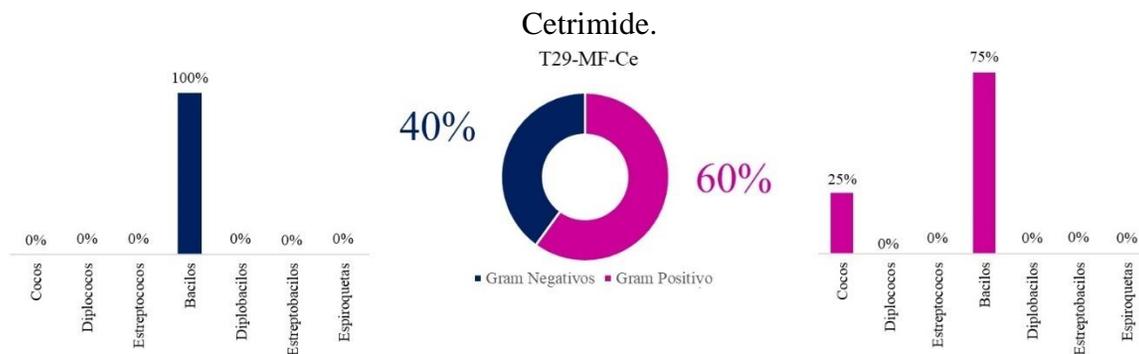
no descarta la presencia parcial de estos, pero en cierto modo eso varia dependiendo a la muestra fijada y teñida.

10.2.9 Análisis e interpretación de características por tinción Gram de consorcios bacterianos en medio de cultivo Cetrimide en muestras de flores en pisos altitudinales a 2900, 3000 y 3100 msnm.

Con respecto a las tinciones Gram estas revelaron una influencia mayor de bacterias Gram negativas a los 2900 msnm y a los 3100 msnm, siendo este último influenciado completamente con un 100 % de estas y a los 2900 msnm con un 60 %, por otra parte, a los 3100 msnm las bacterias Gram positivas expresaron una cabida del 60 % contrario a los 40 % de las Gram negativas.

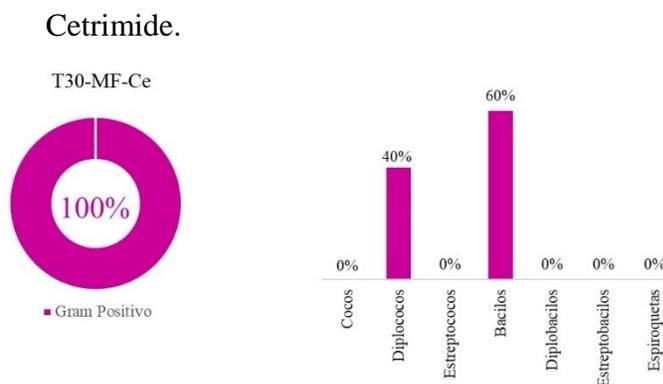
En cuanto a la forma los bacilos fueron completamente expresados en los pisos 2900 y 3100 msnm en referencia a las Gram positivas, esto a diferencia que en las Gram negativas, puesto que pese a que en los tres pisos altitudinales su capacidad es mayormente expresado por dicha forma, únicamente a los 3100 msnm su presencia es del 100%, contrario a los pisos restantes, en los cuales a los 2900 msnm los cocos expresaron un espacio del 25% siendo los restantes bacilos y a los 3000 msnm los diplo cocos manifestaron su presencia con un 40% siendo su complementario los bacilos.

Figura 67: Características por tinción a 2900 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo



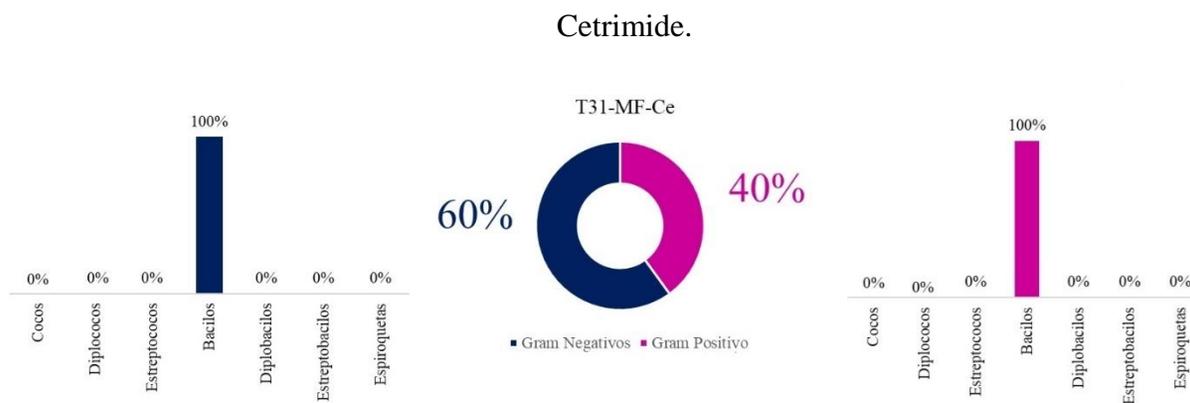
Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 68: Características por tinción a 3000 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo



Elaborado por: Quinatoa K. (2023)

Figura 69: Características por tinción a 3100 msnm, muestra de flores, en medio de cultivo



De acuerdo a las tinciones para los tres pisos reflejaron una importante concentración de bacilos Gram negativos, que de acuerdo a Deshawal (2013) las pruebas de tinción realizadas en su investigación en donde se extrajo la muestra de la rizosfera de la papa, con un medio de cultivo Agar Cetrimide, reflejó un conteo del 80% de bacterias del género pseudomona, las mismas que presentaron una tinción Gram positiva y forma de bacilos, similar a las presentadas en esta investigación.

11. CONCLUSIONES

1. Se caracterizaron consorcios bacterianos para suelo, hojas y flores a los 2900 msnm presentaron una forma irregular (56%), apariencia brillante (100%), propiedades ópticas opacas (89%), con pigmentación (78%) y textura lisa (56%). De la misma manera, a los 3000 msnm se mantienen las características de forma irregular (56%), apariencia brillante (89%), propiedades ópticas opacas (100%); pero difieren por la falta de pigmentación (56%) y textura rugosa (56%). A los 3100 msnm se mantiene forma irregular (67%), apariencia brillante (100%), propiedad óptica opaca (89%), y difiere a los 2900 msnm con la presencia de pigmentación (56%) y a los 3000 msnm con una textura lisa (67%).
2. Por tinción Gram se identificaron las características de los consorcios bacterianos, presentes a los 29000 msnm, en las muestras de suelo, hojas y flores, evidenciaron una concentración de bacterias en forma de bacilos Gram negativos con una frecuencia del 100%, 100% 50%, respectivamente. Cabe resaltar, que a los 3000 msnm la forma y

Tinción se mantienen con las mismas características; pero con menor frecuencia (75%, 50% y 60%). De la misma manera se comporta la forma y la tinción a 3100 msnm con una diferencia de frecuencia menor en el suelo (60%); superior en hojas (100%) e igualdad de frecuencias para flores (60%).

12. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda caracterizar consorcios bacterianos aplicando la técnica por tinción gran en cultivos, tales como: claveles, alelí, flores de verano en otros pisos altitudinales
2. Debemos realizar pruebas bioquímicas como: Catalasa, Simmons citrate, LIA, TSI, oxidasa, ureasa, entre otras; para la identificación de consorcios bacterianos para futuras investigaciones.

13. BIBLIOGRAFÍA

- Acción Ecológica. (2000). LAS FLORES DEL MAL: Las floricultoras y su crecimiento acelerado. *Alerta Verde*, 88, 1–11. <http://www.accionecologica.org/salud-y-ambiente/plaguicidas/446-88-las-flores-del-mal%5Cnhttp://www.edualter.org/material/sobirania/enlace6.pdf>
- Alba, A., Alcázar Torralba, M., Cermeño Martín, F., & Barbero Abolafio, F. (2011). Erosión y manejo del suelo. Importancia del laboreo ante los procesos erosivos naturales y antrópicos. *Agricultura Ecológica En Secano: Soluciones Sostenibles En Ambientes Mediterráneos*.

Ministerio De Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente., 13–38.

Alvear Z, M., López E, R., Rosas G, A., & Espinoza N, N. (2006). Efecto de la Aplicación de Herbicidas en Condiciones de Campo Sobre Algunas Actividades Biológicas. *Revista de La Ciencia Del Suelo y Nutrición Vegetal*, 6(1). <https://doi.org/10.4067/s0718-27912006000100007>

Badii, M. H., & Abreu, J. L. (2006). Control biológico una forma sustentable de control de plagas. *International Journal of Good Consciene*, 1(1), 82–89.

Becton Dickinson. (2014). INSTRUCCIONES DE USO – MEDIOS EN PLACA LISTOS PARA USAR BD MacConkey II Agar USO PREVISTO. *Dickinson, B.*, July, 4. <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8770>

Benavides López de Mesa, J. L., Quintero, G. M., & Ostos Ortiz, O. L. (2006). Aislamiento e identificación de diez cepas bacterianas desnitrificantes a partir de un suelo agrícola contaminado con abonos nitrogenados. *Nova*, 4(6), 50.

Britania, L. (2013). BD Pseudosel Agar (Cetrimide Agar). *BD. Instrucciones De Uso Medios En Placa Listos Para Usar*, April, 1. <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8794>

Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. In *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* (Vol. 29, Issue 8). <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>

Britania Lab. (2021). Cetrimide Agar Base. *Britania Lab.* https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070668da829e.pdf

Britanlab. (2022). Mac Conkey Caldo. *Britania*.

Calero, D. (2021). Florícolas: ¿motores de la expansión urbana? El caso de Cayambe, Ecuador. *Eutopía. Revista de Desarrollo Económico Territorial*, 20, 52–72. <https://doi.org/10.17141/eutopia.20.2021.5164>

Calle, J. J. (2021). *ESTUDIO COMPARATIVO DE LA COMUNIDAD BACTERIANA CULTIVABLE DEL BOSQUE NATIVO Y BOSQUE DE PINO DENTRO DE LA*

MICROCUCENCA DEL MACHÁNGARA’.

- Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA DE CEPAS de *Bacillus* spp. AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DE PAPA (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*, 9(1–2), 31. <https://doi.org/10.21704/rea.v9i1-2.393>
- Casasola, M. (2022). La importancia de realizar una correcta tinción de Gram en la identificación bacteriana. *Revista Colegio de Microbiología y Química Clínica de Costa Rica*, 27(2), 89–98. <http://revista.microbiologos.cr/wp-content/uploads/2022/08/Volumen-27-Nº2-Artículo-3-89-98.pdf>
- CFN, C. F. N. (2022). *Ficha sectorial. Pesca. 27 pp.* <https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2019/Fichas-sectoriales-2-Trimestre-2019/FS-Pesca-y-Elaboracion.pdf>
- Curtis, H., Barnes, N., Schnek, A., & Massarini, A. (2008). *Curtis 7º Edicion en español.pdf* (pp. 699–702).
- Deshawall, V. (2013). Isolation and characterization of *Pseudomonas* strains from Potatoes Rhizosphere at Dehradun Valley , India Isolation and characterization of *Pseudomonas* strains from Potatoes Rhizosphere at Dehradun Valley , India. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(2), 53–55.
- Díaz, A., & Estrada, M. (2018). Determinación preliminar de producción de compuestos bioactivos de actinomicetes y bacterias aislados de ecosistemas glaciares andinos y antárticos. *Universidad Técnica De Ambato*, 126.
- Díaz, J., Cubillos, D., Reyes, D., Corredor, D., Fernández, J., & Murillo, Y. (2020). Diagnóstico de enfermedades en el cultivo de rosa spray (*Rosa* spp) de la comercializadora Tucán Flowers S.A en el municipio de Cogua, Cundinamarca. *Revista de La Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 3(1), 1–5.
- Dibico, S. A., De, C. V, & Mexico, D. F. (2019). AGAR Nutritivo. *Clinical Microbiology and Infection*, 1022.
- Doménech, A. (2012). *Medios de Cultivo.*

[http://www.uib.cat/depart/dba/microbiologia/seminarios/1 Medios de cultivo.pdf](http://www.uib.cat/depart/dba/microbiologia/seminarios/1%20Medios%20de%20cultivo.pdf)

- Garcés, V., Palencia, M., & Combatt C, E. (2017). Development of bacterial inoculums based on biodegradable hydrogels for agricultural applications. *Journal of Science with Technological Applications*, 2(May), 13–23. <https://doi.org/10.34294/j.jsta.17.2.11>
- Guerra, M. (2012). *Cayambe: entre la agroempresa y la agrobiodiversidad*.
- Hernandez-Angel, M. L., Lopez, E. P., Jaramillo Granda, M. C., & Posada Usuga, A. P. (2020). Identificación de microorganismos biorremediadores de suelos agrícolas del norte de Antioquia para degradación del clorpirifos. *Revista Politécnica*, 16(32), 96–110. <https://doi.org/10.33571/rpolitec.v16n32a9>
- INEN, I. E. de N. (2014a). *Calidad Del Suelo. Muestreo. Parte 2: Directrices Sobre Técnicas De Muestreo (Iso 10381-2:2002, Idt)*. 1–5.
- INEN, I. E. de N. (2014b). *CALIDAD DEL SUELO. MUESTREO. PARTE 4: GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN DE SITIOS NATURALES, CASI NATURALES Y CULTIVADOS (ISO 10381-4:2003, IDT)*.
- Jácome, L., Hernández, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., & Franco-Cendejas, R. (2014). *Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología*. 3. www.medigraphic.org.mx
- León Cifuentes, W. (2010). Evaluación ambiental de la producción del cultivo de tomate, bajo condiciones protegidas en Las Palmas Gran Canaria, España, mediante la utilización de la metodología del análisis del ciclo de vida. (ACV), 2007-2009. *TDX (Tesis Doctorals En Xarxa)*. <http://www.tesisenred.net/handle/10803/5814>
- Lorena, W., Ardila, R., Lorena, W., & Ardila, R. (2023). *Diversidad de hongos y bacterias presentes en suelos de bosques tropicales de la Cordillera Occidental-Valle del Cauca en respuesta a un gradiente altitudinal . Diversidad de hongos y bacterias presentes en suelos de bosques tropicales de la Cordillera Oc.*
- MAATE, M. de A. A. y T. E. (2020). *Guía para la gestiónn adecuada De Plaguicidas*.

- Marin L, L., & Jaramillo C, B. (2015). Aislamiento de bacterias degradadoras de pesticidas organofosforados encontrados en suelos y en leche bovina. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(42), 179–185.
- Martinko, J. M., Madigan, M. T., & Parker, J. (2004). *Brock, biología de los microorganismos*. (p. 1011).
- MCD LAB, E. E. M. D. C. (2018). *Agar Mueller Hinton*. 7–9. 2014
- Mendoza, H. T. (2023). *Evaluación de la capacidad de solubilización de fosfatos por bacterias asociadas a la rizosfera de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola*. 31–41.
- Morales, Z. P., Helgason, B. L., & Germida, J. J. (2021). Environment has a stronger effect than host plant genotype in shaping spring brassica napus seed microbiomes. *Phytobiomes Journal*, 5(2), 220–230. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-08-20-0059-R/ASSET/IMAGES/LARGE/PBIOMES-08-20-0059-RT4.JPEG>
- O'Connor, J. (2019). *DESCIFRANDO EL CONTENIDO MICROBIANO DE BIOINSUMOS COMERCIALES PARA EL DISEÑO DE UN CONSORCIO CON POTENCIAL BIOFERTILIZANTE Para*.
- Peña, J. F. (2008). Dreamy roses dreamros cia. ltda., *Universidad de Cuenca*. dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3081/1/tm4a44.pdf
- PLANTEC, P. técnicamente producidas. (2018). *Mondial* ®. <https://plantecuador.com/producto/mondial/>
- Puerto, A., Suárez, S., & Palacio, D. (2014). *Efecto de los plaguicidas sobre el ambiente y salud*. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223240764010>
- Rodríguez, E. (2016). *Caracterización morfo-cultural e identificación molecular de comunidades bacterianas de la cuenca hidrográfica “El Carmen”-Loja*. 95. <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/9902>
- Sanz Cervera, S. (2016). PRÁCTICAS DE MICROBIOLOGIA. In *Universidad de La Rioja* (Vol. 6, Issue August).

- Senasica, S. N. de S. I. y C. A. (2020). Aislamiento de bacterias fitopatógenas y pruebas de patogenicidad. *Senasica*.
- Tomas, C. F. (2022). Fenología de seis variedades de rosa (*Rosa* sp) en producción abierta de Cayhuayna – Huánuco – 2020. *Unheval*, 1–116. <https://repositorio.unheval.edu.pe/handle/20.500.13080/7459>
- ULPGC, U. de las P. de G. C. (2023). *Pruebas bioquímicas de identificación de bacterias*. <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8770>
- UTADEO, J. T. L. U. de B. (2018). *Guía para la toma de muestra Foliar*. 8–9. https://www.utadeo.edu.co/sites/tadeo/files/node/wysiwyg/muestreo_para_analisis_foliars.pdf
- Vázquez, D. M. (2019). *Revisión del uso de Plaguicidas en Rosales de Invernadero en Tenancingo, Estado de México. Sustitución del Bromuro de Metilo con Plaguicidas Orgánicos*.
- Verdeguer, A. (1985). Daños causados en plantas ornamentales por bacterias, virus y micoplasmas. *Hojas Divulgadoras*, 10, 1–20.
- Vivas, G. (2020). EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN POR AGROQUÍMICOS EN AGUA Y SUELO. *Universidad Científica Del Sur. Facultad de Ciencias Ambientales. Ingeniería Ambiental.*, 1–126. <https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/965/TB-BaqueA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

