



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

**Título:**

---

**ANÁLISIS DE GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS  
A LA RIZOSFERA DE DOS MODELOS DE PRODUCCIÓN HORTÍCOLA EN DOS  
SECTORES DEL CANTON LATACUNGA.**

---

Proyecto de investigación presentando previo a la obtención del título de Ingeniera  
Agrónoma.

**Autora:**

Acurio Vaca Wendy Mishell

**Tutor:**

Chasi Vizquete Paolo Wilman

**LATACUNGA-ECUADOR**

**Febrero 2023**

## DECLARACION DE AUTORÍA

Wendy Mishell Acurio Vaca, con cedula de ciudadanía N. ° 175100899-4, declaro ser autora del presente proyecto de investigación “**Análisis de grupos funcionales de microorganismos asociados a la rizosfera de dos modelos de producción hortícola en dos sectores del cantón Latacunga**”, siendo el Ing. 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, expreso que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo de investigación, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga febrero 10 del 2023.

Acurio Vaca Wendy Mishell

CC: 175100899-4

Estudiante

Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete, Mg.

CC: 050240972-5

Docente Tutor

## **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 **ACURIO VACA WENDY MISHELL**, identificada con cédula de ciudadanía **175100899-4**, de estado civil soltera a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero PhD. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Ingeniería Agronómica**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“Análisis de grupos funcionales de microorganismos asociados a la rizosfera de dos modelos de producción hortícola en dos sectores del cantón Latacunga”**. la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

### **Historial académico. -**

Inicio de la carrera: marzo 2019- agosto 2019

Finalización de la carrera: octubre 2022- marzo 2023

Aprobación en Consejo Directivo. – 07 de febrero 2023

Tutor. - Ing. Mg. Wilman Paolo Chasi Vizquete

Tema: **“Análisis de grupos funcionales de microorganismos asociados a la rizosfera de dos modelos de producción hortícola en dos sectores del cantón Latacunga”**.

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

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

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

a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin. b) La publicación del trabajo de grado.

c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.

d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión. e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

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

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

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

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

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

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

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

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 21 días del mes de marzo del 2023.

Acurio Vaca Wendy Mishell

PhD. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez

**EL CEDENTE**

**LA CESIONARIA**

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

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título: **“ANÁLISIS DE GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE DOS MODELOS DE PRODUCCIÓN HORTÍCOLA EN DOS SECTORES DEL CANTÓN LATACUNGA”** de Acurio Vaca Wendy Mishell, de la carrera de Ingeniería Agronómica, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 07 de marzo del 2021

Ing. Mg. Wilman Paolo Chasi Vizuete

DOCENTE TUTOR

CC: 0502409725

## **AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el postulante: Cruz Almagro Francisco Javier, con el título de Proyecto de Investigación: “ANÁLISIS DE GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE DOS MODELOS DE PRODUCCIÓN HORTÍCOLA EN DOS SECTORES DEL CANTON LATACUNGA.” ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

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

Latacunga, 7 de febrero del 2023

Lector 1 (Presidenta)

Ing. Mg. Karina Paola Marín Quevedo.

CC: 050267293-4

Lector 2

Ing. Mg. Francisco Hernán Chancusig.

CC: 050188392-0

Lector 3

Ing. Jorge Fabian Troya Sarzosa Ph.D.

CC: 050164556-8

## **AGRADECIMIENTO**

Mi agradecimiento va dirigido a Dios por bendecirme con salud y vida para poder culminar con éxito un objetivo más. Me gustaría agradecer a mi familia que estuvieron conmigo en los momentos buenos y difíciles de mi carrera universitaria.

Agradezco a mis docentes y compañeros que compartieron conmigo sus enseñanzas porque gracias a ellos me llevo en mi corazón recuerdos inolvidables.

Wendy.



## DEDICATORIA

De manera especial y afectuosa dedico el presente trabajo, a Dios por darme la sabiduría de lograr el cumplimiento de una meta profesional.

A mis padres Bolívar Acurio y Rubí Vaca, gracias por su paciencia, sacrificio y esfuerzo por que estuvieron apoyándome siempre incondicionalmente dando me su amor y comprensión.

A mis hermanas Josselyn y Alejandra que me dieron palabras de aliento en días difíciles para mí, porque con su cariño he podido seguir avanzando.

A mi sobrina Valentina que con sus sonrisas y travesuras hacía que mis días tristes pasaran rápido, porque su noble corazón aliviaba mis días cansados

A mi amigo Alexander Tipán que con su amistad y ocurrencias hicieron de mi vida universitaria el mejor recuerdo que llevare en mi corazón y por su apoyo incondicional porque cuando lo necesitaba estaba para mí.

En general a todas las personas que conocí en el transcurso de mi vida estudiantil; Yulissa, Jenifer, Bryan, Carlos, Darwin, Jordy, Lis, etc. No puedo mencionarles a todos porque son algunos, pero gracias a todos ustedes y a su amistad maravillosa en mi corazón siempre tendrán un lugar.

A mi mascota Spaik, porque nunca me ha dejado sola y a pesar de ser un perro el entendía que debía dejarlo a veces solo, para poder culminar con mis estudios gracias hijo porque siempre me recibías con alegría.

**UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI**

**FACULTAD DE CIENCIAS Y RECURSOS AGROPECUARIOS**

**TITULO:** “ANÁLISIS DE GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE DOS MODELOS DE PRODUCCIÓN HORTÍCOLA EN DOS SECTORES DEL CANTÓN LATACUNGA”.

**AUTOR:**

Acurio Vaca Wendy Mishell

**RESUMEN:**

La presente investigación se realizó en el cantón Latacunga en dos localidades productoras de hortalizas con diferente sistema productivo convencional en San Buenaventura y orgánico en Salache con una altitud de 2700 a 2770 m.s.n.m respectivamente, y tuvo como objeto identificar comunidades bacterianas y grupos funcionales de la rizosfera de los cultivos presentes en estas, donde se ejecutó un análisis. Para la identificación bacteriana se realizó mediante secuenciación del ARNr 16S en suelo, mediante la Secuenciación de tercera generación mediante nanoporos (Oxford Nanopore Technologies)

Para la determinación de diferentes grupos funcionales se utilizó la metodología de (Bernal, 2014), donde podemos observar que utiliza medios de cultivo como; Agar Nutritivo (Microbiota Total), Rosa de Bengala (Población total de Hongos), Agar Ramos Callao (Solubilizadores de fósforo), B de King (Pseudomonas), Agar Extracto de suelo (Bacterias Celulíticas), Watanabe (Fijadores de nitrógeno) y Agar Caseína (Actinomicetos).. Y para conocer el estado de composición del suelo se realizó un análisis físicoquímico en el laboratorio de Eurofinsagro comparando las dos localidades.

**Palabras Clave:** Grupos funcionales, Medios de cultivo, Comunidades Bacterianas.

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI**  
**SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES AND RESOURCES**

**TITLE:** “ANALYSIS OF FUNCTIONAL GROUPS OF MICROORGANISMS ASSOCIATED WITH THE RHIZOSPHERE OF TWO MODELS OF HORTICULTURAL PRODUCTION IN TWO SECTORS OF THE CANTON OF LATACUNGA”.

**AUTHOR:**

Acurio Vaca Wendy Mishell

**SUMMARY:**

The present investigation was carried out in the Latacunga canton in two vegetable-producing localities with different conventional productive systems in San Buenaventura and organic in Salache with an altitude of 2700 to 2770 meters above sea level respectively, and aimed to identify bacterial communities and functional groups of the rhizosphere. Of the cultivars present in these, where an analysis was carried out. For bacterial identification, it was carried out by 16S rRNA sequencing in soil, using third-generation sequencing using nanopores (Oxford Nanopore Technologies)

For the determination of different functional groups, the methodology of (Bernal, 2014) was used, where we can observe that it uses culture media such as; Nutrient Agar (Total Microbiota), Rose Bengal (Total Fungal Population), Ramos Callao Agar (Phosphorus solubilizers), King's B (Pseudomonas), Soil Extract Agar (Cellulite Bacteria), Watanabe (Nitrogen Fixers) and Agar Casein (Actinomycetes).. And to know the state of soil composition, a physicochemical analysis was carried out in the Eurofinsagro laboratory, comparing the two locations.

**Keywords:** Functional groups, Culture media, Bacterial Communities.

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACION DE AUTORÍA .....	ii
1. AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	vi
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	vii
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	xii
ÍNDICE DE GRAFICO .....	xiii
ÍNDICE DE CUADROS .....	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xiv
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xiv
1. INFORMACIÓN GENERAL .....	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO .....	2
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	3
4. JUSTIFICACIÓN.....	3
5. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO .....	4
6. OBJETIVOS .....	4
6.1. Objetivo general.....	4
6.2. Objetivos específicos.....	4
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS RELACIONADOS A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS .....	5
8. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA TÉCNICA.....	6
8.1. Origen de las hortalizas .....	6
8.2. Hortalizas en el Ecuador.....	7
8.3. Rizosfera .....	7
8.4. Características de la rizosfera .....	7
8.5. Producción hortícola Orgánica.....	7
8.6. Producción hortícola Convencional .....	8
8.7. ¿Qué son las bacterias?.....	8
8.8. Consorcios Bacterianos .....	8
8.9. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal .....	8
8.10. Microbiota del Suelo interface raíz suelo.....	9
8.11. Grupos funcionales.....	9
8.12. Los hongos.....	9
8.13. Bacterias solubilizadoras de fósforo y captadores de fósforo .....	10
8.14. Bacterias celulíticas .....	10
8.15. Actinomicetos.....	10

8.16.	Bacterias fijadoras de nitrógeno .....	11
8.17.	Pseudomonas .....	11
9.	METODOLOGÍA.....	11
9.1.	Instrumentos .....	12
9.2.	Actividad 1. Establecer el área de estudio. ....	12
9.3.	Actividad 2. Muestreo de las rizosferas del suelo del cultivo de hortalizas.....	13
9.3.1.	Empaquetado y etiquetado de muestras.....	14
9.3.2.	Actividad 3. Análisis genómico microbiano.....	14
9.3.3.	Actividad 1. Seleccionar la metodología para el cultivo y el aislamiento de las dos muestras.....	14
9.3.4.	Actividad 2. Adecuación de medios de cultivo específicos para cada grupo funcional a encontrar.....	15
9.3.5.	Medio de cultivo.....	15
9.3.5.1.	MEDIO AGAR NUTRITIVO (MICROBIOTA TOTAL) .....	15
9.3.5.2.	ROSA DE BENGALA (HONGOS) .....	15
9.3.5.3.	AGAR RAMOS CALLAO.....	15
9.3.5.4.	AGAR EXTRACTO DE SUELO.....	16
9.3.5.5.	AGAR CASEÍNA .....	16
9.3.5.6.	WATANABE FIJADORAS DE NITROGENO.....	17
9.3.5.7.	B DE KING .....	17
9.3.6.	Actividad 3. Siembra e incubación en los medios de cultivo .....	17
9.3.8.	Actividad 5 Preparación de diluciones seriadas .....	18
9.3.9.	Actividad 6. Determinación de la concentración UFC.....	19
10.	Determinación de grupos de consorcios de bacterias análisis Metagenómico del gen 16s.	19
10.	ANALISIS Y RESULTADOS .....	20
10.1.	Identificación de comunidades bacterianas.....	20
10.2.	Determinación de grupos funcionales .....	22
11.	Relación de la funcionalidad de estos grupos en las características fisicoquímicas del suelo.	29
12.	CONCLUSIONES .....	29
13.	RECOMENDACIONES:.....	30
14.	ANEXOS .....	30
	Bibliografía .....	31

## ÍNDICE DE GRAFICO

Grafico 1 agar nutritivo .....	22
--------------------------------	----

Gráfico 2 Rosa de Bengala .....	23
Gráfico 3 Agar Ramos Callao .....	24
Gráfico 4 Agar Extracto de Suelo.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Gráfico 5 Agar Caseína .....	25
Gráfico 6 Watanabe .....	26
Gráfico 7 B de King .....	27
Gráfico 8 Total Bacterias y Hongos .....	28

### ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 actividades por objetivo .....	6
Cuadro 2 locación 1 .....	12
Cuadro 3 locación 2 .....	13
Cuadro 4 medios de cultivo .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Cuadro 5 tabla taxonómica para bacterias .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Cuadro 6 taxonómico de bacterias.....	21

### ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Sitio experimental 1 .....	12
Figura 2 sitio experimental 2 .....	13
Figura 3 disoluciones.....	18

### ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 análisis de suelo .....	21
Ilustración 2 segundo análisis de suelo.....	21

## 1. INFORMACIÓN GENERAL

**Título del Proyecto:** “Análisis de grupos funcionales de microorganismos asociados a la rizosfera de dos modelos de producción hortícola en dos sectores del cantón Latacunga”.

**Fecha de Inicio**

Diciembre 2022

**Fecha de finalización**

Febrero 2023

**Lugar de Ejecución**

Localidades San Buenaventura y Salache- Cantón Latacunga - Provincia de Cotopaxi.

**Carrera que auspicia**

Ingeniería Agronómica

**Proyecto de Investigación Vinculado**

“ANÁLISIS DE GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE DOS MODELOS DE PRODUCCIÓN HORTÍCOLA EN DOS SECTORES DEL CANTÓN LATACUNGA”.

**Equipo de Trabajo**

**Responsable del Proyecto** Ing. Mg. Wilman Paolo Chasi Vizúete

**Tutor** Ing. Mg. Wilman Paolo Chasi Vizúete

**Investigador** Wendy Mishell Acurio Vaca

**Coordinador del Proyecto**

Wendy Mishell Acurio Vaca

Correo electrónico [wendy.acurio8994@utc.edu.ec](mailto:wendy.acurio8994@utc.edu.ec)

Numero celular 0963035727

**Área de conocimiento:** microorganismos.

### **Línea de investigación**

Análisis para conservar y aprovechar los microorganismos del suelo de los dos sectores del Cantón Latacunga.

### **Sub línea de Investigación**

Caracterización de las dos biodiversidades.

### **Línea de vinculación**

Gestión de los recursos naturales, biodiversidades y tecnologías para el desarrollo de las personas y la sociedad.

## **2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO**

El proyecto de investigación tiene como finalidad identificar grupos funcionales de dos suelos hortícolas convencional y orgánico, para lo cual se procedió a recolectar muestras de suelos hortícolas, de las cuales utilizando medios de cultivo como: Agar Nutritivo (Microbiota Total), Rosa de Bengala (Población total de hongos), Agar ramos callao (Solubilizadores de fósforo), B de King (Pseudomonas), Agar extracto de suelo (Bacterias celulíticas), Watanabe (Fijadores de nitrógeno), Agar Caseína (Actinomicetos), donde se realizó el conteo de colonias y UFC\* gr de suelo por cada uno de los grupos funcionales mencionados y se realizó en análisis físico-químico de laboratorio eurofinsagro.



### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Según (Cruz, 2021), plantea el estudio de microorganismos relacionados con las plantas para disminuir el deterioro del suelo, debido a efectos adversos como la utilización de químicos negativamente, fundamentando que en la planta habitan microorganismos de vida libre trabajando para su beneficio, bacterias como *Paenibacillus* y *Bacillus* incrementan el nitrógeno en el suelo transformando el nitrógeno del aire, mientras que hongos como *Penicillium* incrementan la disponibilidad de fósforo. (Cruz, 2021)

La mitad de las tierras en Ecuador muestran signos de degradación. La erosión o la contaminación han provocado que el 33% de las tierras del planeta estén degradadas. Las tierras que antes estaban cubiertas por bosques, poco a poco se han ido convirtiendo en desiertos y zonas áridas, el alta de mandas de productos hortícolas incrementa la zona agraria que con el paso de los años causa desgaste por sobreproducciones y abusos del recurso suelo. (Vatsyayana, 2020)

La degradación de los suelos hace referencia a la alteración negativa o disminución de una o varias de las ofertas de bienes, servicios o funciones ecosistémicas, provocada por procesos naturales o antrópicos (de acción humana), y causando la pérdida del componente ambiental. (Camacho, 2019)

La agricultura convencional se basa en la intervención química para combatir plagas y malezas y proporcionan nutrición vegetal. Eso significa pesticidas, herbicidas y fertilizantes sintéticos. La agricultura ecológica se basa en principios naturales como por la biodiversidad y compostaje en lugar de producir alimentos saludables y abundantes, la agricultura convencional provoca un aumento de emisiones de gases de efecto invernadero, erosión del suelo, contaminación del agua y amenaza la salud humana. La agricultura orgánica tiene una menor huella de carbono, conserva y construye salud del suelo, repone los ecosistemas naturales para agua más limpia y aire, todo sin residuos tóxicos de plaguicidas.

### **4. JUSTIFICACIÓN**

Los suelos son una de las principales reservas mundiales de biodiversidad y albergan más del 25 % de la diversidad biológica del planeta. Estos microorganismos nos alimentan, nos

protegen del cambio climático y hasta de las enfermedades. En el Día Mundial del Suelo, la FAO pide una gestión sostenible de estos ecosistemas, así como su inclusión entre las prioridades de los países. (Vatsyayana, 2020)

En el informe de (Vega, s.f.), En el suelo se pueden encontrar una enorme cantidad de organismos diferentes, de tamaño y funciones muy variable. Son fundamentales para el desarrollo de la vida en el planeta, jugando un papel relevante en la formación y estructuración del suelo y en la movilización de nutrientes. Se han de conocer, pues, los agentes que viven y trabajan en el suelo, saber cuáles son sus acciones en el biotopo suelo y cómo el hombre puede intervenir para mantener y acrecentar la fertilidad de los suelos cultivados utilizando a los organismos edáficos en su favor.

Por lo establecido es muy importante conocer la actividad de los grupos bacterianos en la rizosfera del suelo de los diferentes cultivos como las hortalizas en diferentes altitudes con dos tipos de suelo convencional y orgánico para establecer un análisis de esta dinámica.

## **5. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO**

Los beneficiarios de este proyecto son los agricultores. Por su parte, los microorganismos aportan a las plantas nutrientes, agua y sustancias bioestimulantes que fomentan el crecimiento vegetal, mejoran su resistencia a patógenos y realizan funciones como la fijación de nitrato atmosférico.

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1. Objetivo general**

- Determinar los grupos funcionales de microorganismos asociadas a la rizosfera de dos modelos de producción hortícola convencional y orgánica.

### **6.2. Objetivos específicos**

- Identificar las comunidades bacterianas presentes en la rizosfera de los cultivares en los dos sistemas de producción.
- Determinar los grupos funcionales existentes en los dos sistemas de producción.

- Relacionar la funcionalidad de estos grupos en las características fisicoquímicas del suelo.

## 7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS RELACIONADOS A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>ACTIVIDADES</b>	<b>RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD</b>	<b>MEDIO DE VERIFICACION</b>
1. Determinar la composición del microbioma bacteriano en los dos sistemas de producción.	Delimitación del área de estudio.  Muestreo de suelos.	Selección de cada muestra de suelo para análisis en el laboratorio.	Recolección de las muestras en fundas ziploc.  Memoria fotográfica.
2. Diferenciar los grupos funcionales existentes en los dos sistemas de producción.	Preparación de medios de cultivo específicos para cada grupo funcional a encontrar. Siembra e incubación de los medios de cultivo. Preparación de la muestra para recuento de UFC. Determinación de la concentración de unidades formadoras de colonia.	Grupos funcionales de suelo de dos sistemas de producción hortícola.	Tabla de conteo.  Memoria fotográfica

<p>3. Relacionar la funcionalidad de estos grupos en las características fisicoquímicas del suelo.</p>	<p>Análisis fisicoquímicos de suelos. Revisión bibliográfica.</p>	<p>Características fisicoquímicas de los suelos en estudio.</p>	<p>Análisis de relación.</p>
--	---	---	------------------------------

*Cuadro 1 actividades por objetivo*

**Elaborado por:** Acurio Wendy

## 8. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA TÉCNICA

(Palacios, 2017)

### 8.1. Origen de las hortalizas

El cultivo de hortaliza apareció entre los años 7.000 y 5.000 de nuestra era. Surgió, más o menos en la misma época, en Anatolia y el Sureste asiático, en China y en América central, y posteriormente en los Andes. (M., 2004)



**Fuente:** (Garcia, 2015)

## **8.2. Hortalizas en el Ecuador**

En el Ecuador, la producción de hortalizas está proyectándose con éxito tanto a los mercados locales como a los grandes mercados internacionales, debido a su reconocida calidad, lo que está motivando que cada vez más agricultores incursionen en este importante renglón productivo. Entre las hortalizas cuya demanda ha crecido en los últimos tiempos, aparece la lechuga de hoja, que tiene una gran demanda entre los consumidores locales y ya ha incursionado con éxito en el mercado de los Estados Unidos, al ser producida de manera "orgánica". (Palacios, 2017)

## **8.3. Rizosfera**

Considerada como el ecosistema terrestre más grande, es la parte del suelo próxima a las raíces de la planta, que se extiende concretamente entre 1 y 3 mm desde la superficie de las raíces al interior del suelo. (Márquez, 2021)

## **8.4. Características de la rizosfera**

En la zona rizosférica, las plantas exudan a través de sus raíces sustancias de origen orgánico, azúcares de bajo y medio peso molecular (carbohidratos) derivados de la fotosíntesis, y actividad fisiológica en general que estimula la población microbiana y que sirve como fuente nutritiva y/o energética para los microorganismos. (Martinez, 2016)

## **8.5. Producción hortícola Orgánica**

La Producción orgánica de hortalizas requiere de prácticas especiales de manejo del suelo, entre ellas la más utilizada es la fabricación y aplicación de abono orgánico y compost. - No utiliza agroquímicos (fertilizantes nitrogenados, roca fosfórica, calcio y otros herbicidas, plaguicidas). (Bejarano E., s.f.)

## **8.6. Producción hortícola Convencional**

Es un sistema productivo de carácter artificial, basado en el consumo de determinados insumos considerados externos, como es el caso de la energía fósil, herbicidas y pesticidas, abonos químicos que sean sintéticos, etc. En este post veremos de forma resumida qué es la agricultura convencional, así como sus ventajas y desventajas. (Esparza, 2009)

## **8.7. ¿Qué son las bacterias?**

Las bacterias son organismos procariotas unicelulares, que se encuentran en casi todas las partes de la Tierra. Son vitales para los ecosistemas del planeta. Algunas especies pueden vivir en condiciones realmente extremas de temperatura y presión. El cuerpo humano está lleno de bacterias, de hecho, se estima que contiene más bacterias que células humanas. La mayoría de bacterias que se encuentran en el organismo no producen ningún daño, al contrario, algunas son beneficiosas. Una cantidad relativamente pequeña de especies son las que causan enfermedades. (Huter, 2023)

## **8.8. Consorcios Bacterianos**

Menciona Las transformaciones mediadas por consorcios microbianos son el resultado de su búsqueda de energía para vivir. Cada participante obtiene este recurso vital efectuando una reacción bioquímica característica y diferencial, sobre un sustrato específico que otro miembro produce, transformándolo a su vez en un producto que alimenta a alguien más en el consorcio. (MONTROYA, 2011)

## **8.9. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal**

Se denomina rizobacterias a las bacterias que viven en las inmediaciones de las raíces de las plantas, es decir, la rizosfera. Estas bacterias constituyen un grupo formado por multitud de

especies, algunas de las cuales tienen efectos beneficiosos sobre el desarrollo de las plantas mediante diversos mecanismos, recibiendo por ello el nombre de PGPR (Plants Growth Promoting Rhizobacteria). Por tanto, para hablar de sus características y diferentes efectos en el desarrollo de las plantas, se debe definir primero cómo se comportan en relación con el espacio de suelo que supone la rizosfera y los demás microorganismos presentes en él. (López, 2017)

Otra característica que se debe de tener en cuenta son las distintas formas que tienen de colonizar las raíces las PGPR. Existen formas de vida simbiótica que nodulan las raíces, como el género *Rhizobium*, que colonizan las raíces de las plantas de la familia Fabaceae [Desbrosses & Stougaard, 2011]. También se pueden dar relaciones no simbióticas, tanto epifitas como endófitas, como por ejemplo es el caso de bacterias del género *Azospirillum*, que colonizan raíces de gran variedad de plantas. (López, 2017)

#### **8.10. Microbiota del Suelo interface raíz suelo**

El microbiota del suelo está conformado por microorganismos tales como bacterias, hongos, protozoos y animales, que contribuyen al funcionamiento de los ecosistemas, ya que de ellos depende el mantenimiento de la estructura del suelo, la descomposición de la materia orgánica y la disponibilidad y reciclaje de nutrientes. (Arahana Bonilla, 2019)

#### **8.11. Grupos funcionales**

Las moléculas biológicas grandes generalmente están compuestas por un esqueleto de carbono (formado por átomos de carbono e hidrógeno) y algunos otros átomos, incluyendo oxígeno, nitrógeno o azufre. A menudo, estos átomos adicionales aparecen en el contexto de grupos funcionales. (Zaro, 2019)

#### **8.12. Los hongos**

Los hongos son organismos que tienen células con núcleo (eucariontes) y que requieren de otros seres vivos para obtener su alimento (son heterótrofos). Sus células poseen una pared

gruesa de un compuesto (polisacárido) llamado quitina, el cual les provee rigidez y resistencia. La quitina también es el principal constituyente del exoesqueleto de los artrópodos. La mayoría de los hongos son pluricelulares y sus cuerpos están constituidos por filamentos tubulares microscópicos, denominados hifas, que se ramifican y entrecruzan. Un conjunto de hifas se conoce como micelio. Lo que vemos sobre la superficie con diversas formas y a veces con “sombbrero” y que también llamamos hongos son los órganos reproductivos de uno de los grupos. (Roskov, 2009)

### **8.13. Bacterias solubilizadoras de fósforo y captadores de fósforo**

Bacterias solubilizadoras de fosforo a partir de cuatro suelos de la provincia de Chimborazo, se realizaron aislamientos selectivos con la utilización de un medio específico para estas bacterias, en el laboratorio de Ciencias Biológicas de la facultad de Recursos Naturales. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones para la evaluación del número de unidades formadoras de colonia por gramo de suelo que presentaron las cuatro muestras, se realizó la purificación, almacenamiento, evaluación del índice de solubilización de las bacterias y posterior caracterización microscópica. Dando como resultado el aislamiento de 100 bacterias solubilizadoras de fosforo a partir de 4 muestras compuestas las que fueron purificadas y almacenadas en crio preservación en la colección de microorganismos, se obtuvo también 6 niveles de significancia para los índices de solubilización de las bacterias estudiadas, la de mayor índice fue la bacteria 1661 con 5.05. (Guzmán Estrada, 2012)

### **8.14. Bacterias celulíticas**

Estas bacterias tienen la habilidad bioquímica de producir celulasas, enzimas que pueden hidrolizar la celulosa. También pueden utilizar celobiosa (disacárido) y otros carbohidratos. Especies celulíticas de importancia son: *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Clostridium loch headii* y *Cillobacterium cellulosolvens*. (Villalobos, 2017)

### **8.15. Actinomicetos**

Deriva del latín aktino que significa “sol”, “rayo” o “en disposición radiada”, y que hace referencia a estructuras “con filamentos”, y mycete, “hongo”. Es decir, fueron descritos



inicialmente como hongos radiales que formaban finos filamentos; esta descripción viene de su morfología de crecimiento macroscópico, que es muy similar a la de los hongos. Los actinomicetos son componentes habituales del suelo y de materia orgánica en descomposición. (Esparza, 2009)

#### **8.16. Bacterias fijadoras de nitrógeno**

Encontramos dos grupos de organismos. Al primer grupo pertenecen bacterias móviles del suelo, que son atraídas hacia la raíz por compuestos que esta libera. Pertenecen al grupo de quimioorganotrofos aerobios y se denominan Rizobios. A este grupo pertenecen *Rhizobium* (nodulan en raíces de leguminosas de climas templados y subtropicales), *Azorhizobium* (nódulos en tallos y raíces) y *Bradyrhizobium* (nodula raíces de soja). Existen otros formadores de nódulos de fijación dudosa de nitrógeno como son: *Phyllobacterium* (forma nódulos en tallos y hojas de mirsináceas y rubiáceas) y *Agrobacterium*. (Martínez, s.f.)

El segundo grupo está formado por Actinomicetos (bacterias Gram positivas) que nodulan raíces de muchos árboles y arbustos. Son aquellas bacterias filamentosas que viven en simbiosis con plantas actinorricicas (angiospermas capaces de formar nódulos) y son pertenecientes al género *Frankia*. No forma micelio aéreo y sus esporas son inmóviles. Nodula los géneros *Alnus*, *Myrica*, *Casuarina*, etc. Esta nodulación es de gran importancia para plantas leñosas perennes, porque aporta nitrógeno al suelo en zonas pobres o repobladas. (Martínez, s.f.)

#### **8.17. Pseudomonas**

Son bacterias gramnegativas no formadoras de esporas con forma de bacilo y con uno o más flagelos polares. *Pseudomonas aeruginosa* es el representante más conocido de este género. La bacteria fue descubierta en 1900 y debido a su alta resistencia a los antibióticos pertenece a los patógenos más peligrosos de los centros hospitalarios. (Rüden, 2019)

### **9. METODOLOGÍA**

### 9.1. Instrumentos

Observación Directa

Revisión Bibliografía

### 9.2. Actividad 1. Establecer el área de estudio.

Establecida el área de estudio, que se encuentren con condiciones favorables a la rizosfera de producción hortícola, utilizando el GPS (Google mapa 2023), se va a proceder a levantar las muestras de suelo en fundas de plástico ziploc.

Imagen del mapa de la localidad muestreada (**San Buenaventura**), provincia de Cotopaxi.

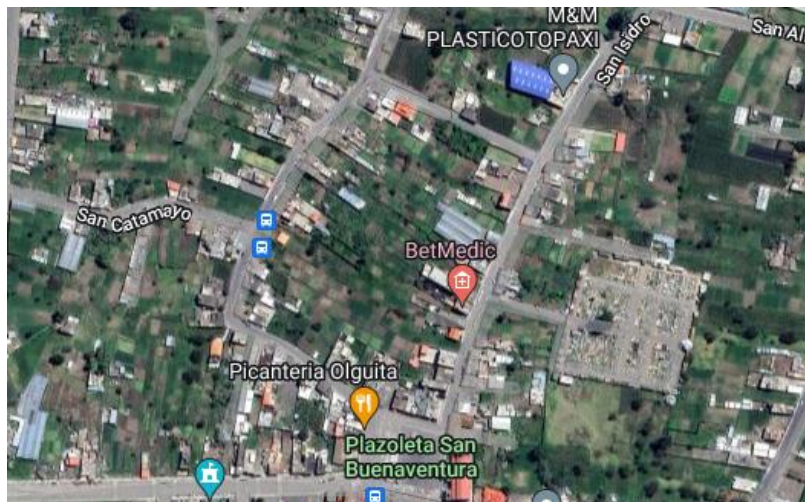


Figura 1 Sitio experimental San Buenaventura

**Fuente:** (Maps, 2023)

COTOPAXI- LATACUNGA- SANBUENAVENTURA		
ALTITUD	LATITUD	LONGITUD
2770 MSNM	-0.894300	-78.610432

Cuadro 2 locación 1

**Elaborado por:** Acurio Wendy

Imagen del mapa de la localidad muestreada (**Salache**), provincia de Cotopaxi.



Figura 2 sitio experimental 2 Salche

Fuente: (Maps, 2023)

COTOPAXI- LATACUNGA- SALACHE		
ALTITUD	LATITUD	LONGITUD
2700 MSNM	-0.999899	-78.622341

Cuadro 3 Localización 2 Salache

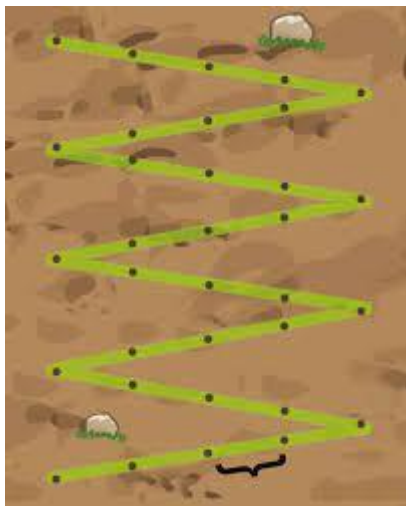
Elaborado por: Acurio Wendy

### 9.3. Actividad 2. Muestreo de las rizosferas del suelo del cultivo de hortalizas

**Muestra 1 (San Buenaventura).** Se utilizó la metodología del manual establecido por el dónde (Bejarano E., s.f.) Indica que las muestras edáficas deben ser tomadas de áreas donde se encuentre libre de fertilizaciones inorgánicas y labores culturales, la profundidad para tomar la muestra es de 20 a 30cm.

**Muestra 2 (Salache).** Se utilizó la metodología del manual establecido (Bejarano E., s.f.) Donde indica que las muestras edáficas deben ser tomadas de áreas donde se encuentre libre de fertilizaciones inorgánica y labores culturales, la profundidad para tomar la muestra es de 20 a 30cm.

En las dos muestras se obtendrá tres muestras de suelo mediante el método de zig- zag de manera aleatoria con sus puntos GPS, correspondientes a cada muestra, aproximadamente se obtendrá 1kg de toda el área de estudio. Se procede en las dos muestras a retiras materiales extraños que no pertenece al microbiota del suelo.



*Gráfico 1 método de muestra zig-zag*

**Fuente:** (Naranjo, 2018)

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

Se va colocando las muestras en fundas ziploc, con su respectiva identificación de los lugares que fueron recolectadas con las siguientes siglas, MS1 A1, B2, 3C. La siguiente muestra es MS2 1A, 2B, 3C. Donde fueron tomadas cada una previa a su análisis.

### **9.3.2. Actividad 3. Análisis genómico microbiano**

Utilizamos análisis de suelo del laboratorio Eurofinsagro para determinar los microorganismos que se encuentran en las dos muestras de suelo.

### **9.3.3. Actividad 1. Seleccionar la metodología para el cultivo y el aislamiento de las dos muestras.**

Se realizó un estudio y revisión de fuentes bibliográficas para determinar el mejor método para el aislamiento microbiológico de grupos funcionales donde la fuente más acertada fue de (Bernal, 2014)

Unidad Formadora de Colonias (UFC) es un término de la microbiología. Es un indicador de la cantidad de microorganismos vivos en un líquido. Este valor, determinado por el número de colonias individuales, describe el número de células de un organismo en el agua, se utilizó el manual de hongos biocontroladores, para el análisis de calidad. (Sánchez F. & R, 2017)

#### **9.3.4. Actividad 2. Adecuación de medios de cultivo específicos para cada grupo funcional a encontrar.**

Para la adecuación de medios de cultivos específicos para las dos muestras se utilizará los siguientes reactivos.

#### **9.3.5. Medio de cultivo**

##### **9.3.5.1. MEDIO AGAR NUTRITIVO (MICROBIOTA TOTAL)**

En un recipiente con tapa se coloca 800 ml de agua destilada y se pesan 16 gr de agar nutritivo, se lo lleva a un agitador hasta que se mezcle homogéneamente, se mide a su vez el Ph 7.0 de la preparación con ayuda del ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio se obtiene el Ph adecuado, se esteriliza la autoclave a 15 min por 15 libras de presión.

##### **9.3.5.2. ROSA DE BENGALA (HONGOS)**

En un recipiente con tapa se coloca 800 ml de agua destilada, en donde se va colocando todos los reactivos a la cantidad indicada, excepto la estreptomycin. Se lo lleva a un agitador hasta que se mezcle homogéneamente, se mide a su vez el Ph 5.5 de la preparación con ayuda del ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio se obtiene el Ph adecuado, se esteriliza la autoclave a 15 min por 15 libras de presión.

Después la estreptomycin se diluye en 10 ml de agua y se añade antes de dispensar, en las cajas Petri con ayuda de una jeringuilla y un filtro. La estreptomycin inhibe el crecimiento de bacterias lo que nos permite captar solo el crecimiento de hongos.

##### **9.3.5.3. AGAR RAMOS CALLAO**

En un recipiente con tapa se coloca 800 ml de agua destilada en al que se va colocando extracto de levadura, la glucosa y fosfato tricálcico en las cantidades indicadas. Se lo lleva a un agitador hasta que se mezcle homogéneamente, se mide a su vez el Ph 7.0 de la preparación con ayuda del ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio se obtiene el Ph adecuado, se esteriliza la autoclave a 15 min por 15 libras de presión.

#### **9.3.5.4. AGAR EXTRACTO DE SUELO**

En un recipiente con tapa se coloca 650 ml de agua destilada, se va colocando el fosfato dibásico de potasio y el nitrato de amonio en las cantidades adecuadas. Los 650ml de agua destilada van en función a los restantes volúmenes que van utilizar (carboximetilcelulosa y extracto de suelo).

La carboximetilcelulosa se diluye en 50 ml de agua destilada, con ayuda de un agitador se diluye a calor y la muestra se pone al final.

La muestra de suelo se obtiene mediante recolección de un jardín rico en humus, libre de hojarasca, o impurezas de la superficie, se toma aproximadamente 1kg de muestra de suelo el mismo que se tamiza a una malla menor de 2mm, hasta obtener una muestra de 500gr. Luego en 800ml de agua corriente se coloca el suelo y se agita bien. Se esteriliza en Erlenmeyer amplio en la autoclave en 15 min por 15 libras de presión. Se retira y se deja decantar lo suficiente para luego filtrar a través de papel Whatman (papel filtro) en una bomba de espacio por lo menos dos veces. El filtrado es llevado a la centrifuga por 20 minutos. De la solución final se toma 100ml de muestra y se añade a la solución inicial del cultivo. Se lo lleva a la agitadora y se mide a su vez el Ph 6.5 de la preparación con ayuda del ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio se obtiene el Ph adecuado, se esteriliza la autoclave a 15 min por 15 libras de presión.

#### **9.3.5.5. AGAR CASEÍNA**

En un recipiente con tapa que coloca 750 ml de agua destilada, se coloca la caseína y fosfato mono potásico. El almidón debe ser diluido aparte a calor en 50 ml de agua destilada, que este

transparente, sin ebullición, se lo lleva a la formulación final. Se lo lleva a la agitadora y se mide a su vez el Ph 7.0 de la preparación con ayuda del ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio se obtiene el Ph adecuado, se esteriliza la autoclave a 15 min por 15 libras de presión.

#### **9.3.5.6. WATANABE FIJADORAS DE NITROGENO**

Para preparar 800ml de medio Watanabe se mide 400 ml de agua destilada en una botella con tapa rosca, se coloca la glucosa el manitol y el ácido málico. El almidón se diluye a calor en 50 ml de agua destilada, una vez bien diluido se añade al medio, tomando en cuenta todos los volúmenes. Se añade las soluciones II y III (Tomando los reactivos en las cantidades indicadas) se toman los volúmenes específicos y se añade al medio de cultivo.

El bromotimol azul al 1% en etanol se prepara pensando 1g de este reactivo y diluyendo en 100ml de etanol de lo cual se toma 2ml en 100ml de medio. Con ayuda de una pipeta. Se suman los volúmenes indicados y se descuentan la cantidad faltante para completar 800ml. Se nivela en Ph a 6.8 y 7.2 y se coloca al agar.

Se coloca 6ml en cada tubo y se esteriliza en la autoclave en 15 min a 15 libras de presión. En la cámara se siembra 0.2 ml de la dilución de la muestra.

#### **9.3.5.7. B DE KING**

El medio B de King se realiza de acuerdo a la fórmula teórica descrita por King. Ward y Raney con 800ml de agua destilada en un recipiente con tapa.

#### **9.3.6. Actividad 3. Siembra e incubación en los medios de cultivo**

- Seleccionar las diluciones más concentradas.
- Rotular las cajas Petri con medio de cultivo agar agua.
- Sembrar 100 ml de las diluciones seleccionadas.
- Sellar las cajas Petri con papel Parafilm o papel plástico de cocina.
- Incubar de 22°C a 25°C por el tiempo estandarizado.
- Adicionar tres gotas de azul de lactofenol sobre la superficie del agar.

- Contar un cuadro de agar coloreado de aproximadamente 1cm.
- Contar 300 conidios por muestra (germinados y no germinados)
- Registro de los datos obtenidos según la dilución sembrada y la repetición
- Calcular el porcentaje de germinación. (Gutierrez, 2008)

### 9.3.7. Actividad 4. Preparación de muestra para recuento de UFC

- Tomar tres sub muestras 1g para muestras sólidas 1ml con micropipeta para muestras líquidas.
- Agitar en vortex hasta que la muestra se dispersé totalmente.
- Colocar las muestras en los tubos de ensayo de 15ml
- Acondicionar cada tubo de ensayo de 9ml de solución estéril de tritón X-100 al 0.1%. (Gutierrez, 2008)

### 9.3.8. Actividad 5 Preparación de diluciones seriadas

#### Método de siembra por diluciones seriadas

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

#### Proceso

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

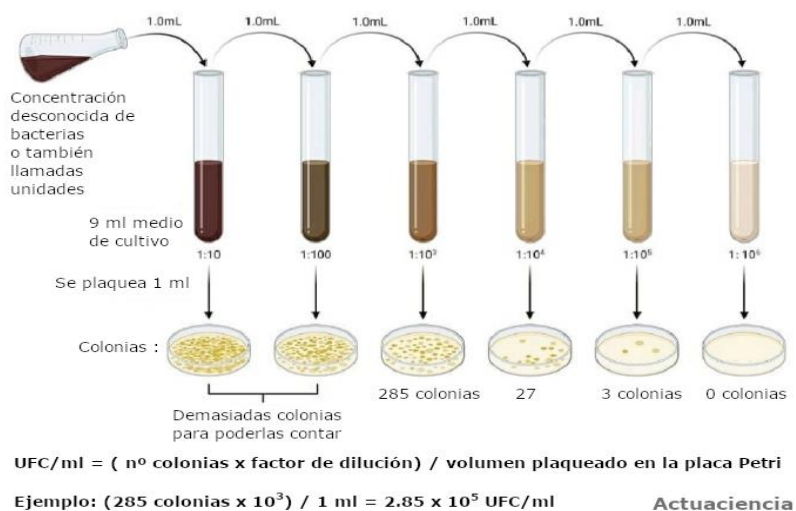


Figura 3 disoluciones



**Fuente:** (亞歷山德拉膠水, 2019)

- ❖ Tomar de 100 ml (1ml) de la suspensión madre y colocar en otro tubo de ensayo con solución estéril de tritón X-100 al 0.1%.
  
- ❖ Agitar en vortex vigorosamente hasta que la muestra se disperse completamente (*dilución  $10^{-2}$* ).
  
- ❖ A partir de la *dilución  $10^{-2}$*  repetir los pasos anteriores tantas veces como sea necesario para alcanzar el número de diluciones deseadas. Marcar los tubos con el nombre de la dilución correspondiente. Ej. ( *$10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$* ) etc. El número de diluciones dependerá de la concentración del producto generalmente se realiza hasta la dilución  *$10^{-6}$* . (Bernal, 2014)

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

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

- Rotular las cajas Petri con medio de cultivo PDA con el nombre de muestra.
- Nombre de cada una de las muestras
- Fecha de inicio
- Numero de dilución siguiente a la del tubo que es utilizado para sembrar.
- Tener 10 repeticiones / cajas inoculadas, más los blancos, en este caso los testigos 2 por grupo funcional y se siembra 84 diluciones, es decir 12 cajas Petri por muestra.

## **10. Determinación de grupos de consorcios de bacterias análisis Metagenómico del gen 16s**

Se obtiene la muestra de suelo de un cultivo del ambiente a estudiar, se extrae el material genético, los ácidos nucleicos el ADN, se preparan las muestras para secuenciarlas. (Rodriguez, 2023)

Las lecturas o secuencias obtenidas siguen un proceso bioinformático para darle a estas lecturas una identidad (clasificación taxonómica), la cual se realiza empleando bases de datos en las cuales se comparan estas secuencias y se establece su similitud. (Rodríguez, 2023)

Cuando se sabe qué microorganismos habitan en la muestra se puede descubrir cuál es la función que están cumpliendo en ese ambiente, si son bacterias que promueven el crecimiento de la planta o si en cambio están ocasionando algún problema. (Rodríguez, 2023)

## 10. ANÁLISIS Y RESULTADOS

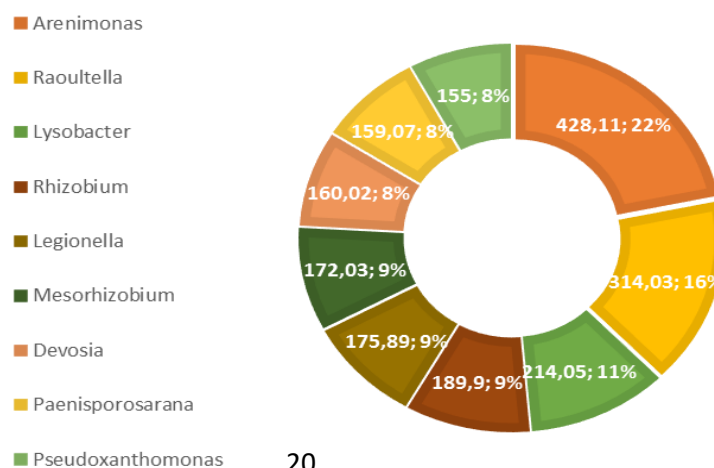
### 10.1. Identificación de comunidades bacterianas

En el control de calidad de la identificación se ha obtenido analizadas con un rendimiento total bases, obteniendo una puntuación de calidad promedio de longitud de secuencia promedio.

#### ANÁLISIS DE SUELO SALACHE DEL LABORATORIO EUROFINSAGRO

Organismos	Resultados
Arenimonas	428,11
Raoultella	314,03
Lysobacter	214,05
Rhizobium	189,90
Legionella	175,89
Mesorhizobium	172,03
Devosia	160,02
Paenisporosarana	159,07
Pseudoxanthomonas	155

Cuadro 4 Tabla Análisis de suelo Salache



*Ilustración 1 análisis de suelo*

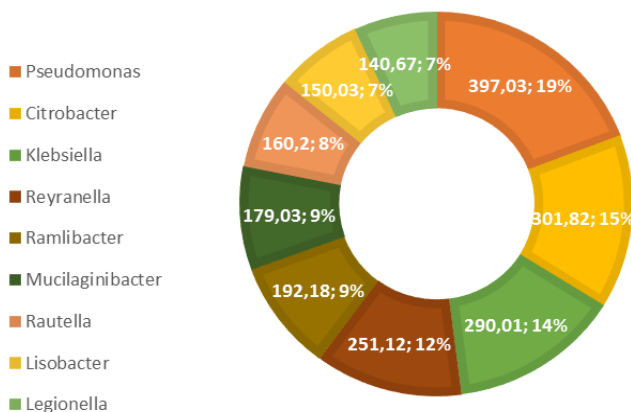
**Fuente:** (Rodríguez, 2023)

Como se puede evidenciar en el cuadro 4 y en la ilustración 1, los géneros con mayor número de lecturas en muestra de suelo para lectura son (Arenimonas 428,11), (Raoutella 314,03), (Lysobacter 214.05) Según (Cutiño, s.f.) Las Arenimonas, proveen de herramientas para la identificación molecular de bacterias económicamente relevantes, pertenecen al grupo funcional de bacterias fijadoras de nitrógeno, donde los organismos se encuentran en la rizosfera de las plantas. (Bernal, 2014)

**ANÁLISIS DE SUELO SAN BUENAVENTURA DEL LABORATORIO  
EUROFINSAGRO**

<b>Organismos</b>	<b>Resultados</b>
Pseudomonas	397,03
Citrobacter	301,82
Klebsiella	290,01
Reyranella	251,12
Ramlibacter	192,18
Mucilaginibacter	179,03
Raoutella	160,2
Lysobacter	150,03
Legionella	140,67

*Cuadro 5 Tabla Análisis de suelo San Buenaventura*



*Ilustración 2 segundo análisis de suelo*

**Fuente:** (Rodriguez, 2023)

Como se puede evidenciar en el cuadro 5 y en la ilustración 2, los géneros con mayor número de lecturas en muestra de suelo para lectura son (*Pseudomonas* 397,03),

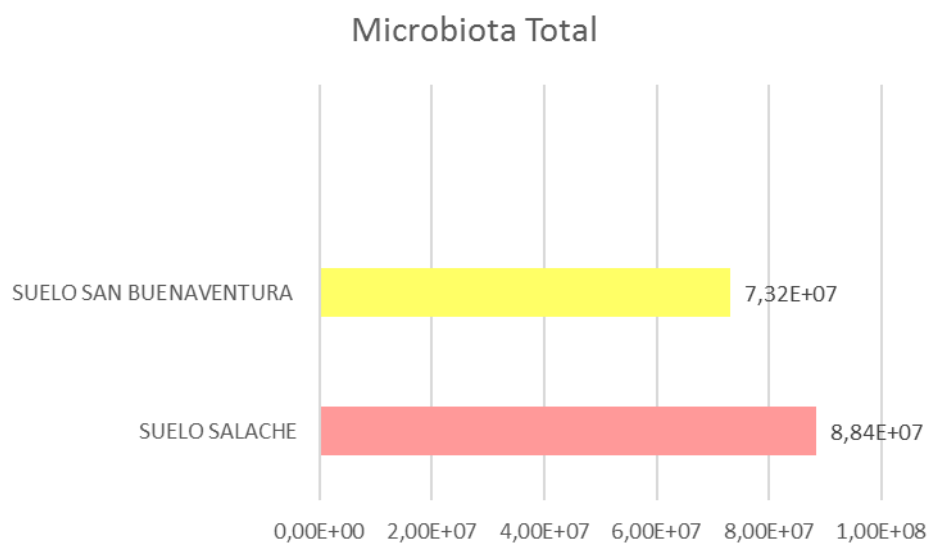
(*Citrobacter* 301,82), (*Klebsiella* 290,01) Según (Cutíño, s.f.) Las *Pseudomonas*,

Estas bacterias pueden ejercer un efecto benéfico directo, a través de la síntesis de fitohormonas y de vitaminas, estimulación de la germinación de semillas y emergencia de plántulas, inhibición de la síntesis de etileno, solubilización de fósforo (P) inorgánico. (Cruz C., 2011)

Según (Cutíño, s.f.) Son bacterias móviles, con capacidad variable para fermentar la lactosa, algunos pueden utilizar citrato y otros no, los factores de virulencia de algunas especies son los antígenos somáticos O, flagelar H y de superficie K, lo que hace que den reacciones cruzadas con otras *Enterobacteriaceae*. (Cruz, 2021)

## 10.2. Determinación de grupos funcionales

**Gráfico 1** concentración de colonias -AGAR NUTRITIVO- Bacterias  
(MICROBIOTA TOTAL)



*Gráfico 2 Microbiota Total*

**Elaborado por:** Acurio Wendy

**En el gráfico 1.** Podemos observar que la muestra de suelo 1 de Salache tiene mayor población de bacterias  $8,06 \times 10^7$ , en cambio la muestra de suelo de San Buenaventura tiene menor población de bacterias con  $6,11 \times 10^6$ , vamos observando que en el suelo orgánico de Salache existe mayor población de bacterias comparado con San Buenaventura.

**Gráfico 2** concentración de colonias -ROSA DE BENGALA (HONGOS)

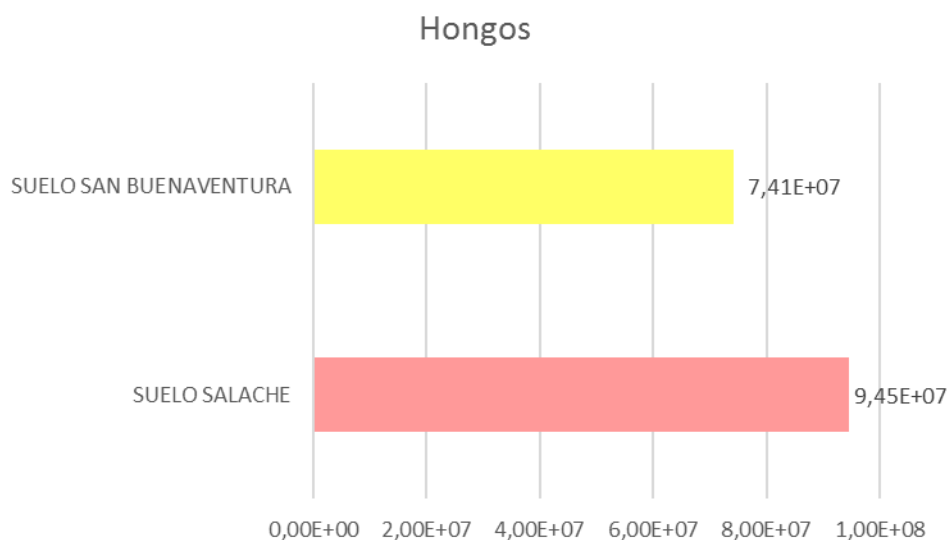
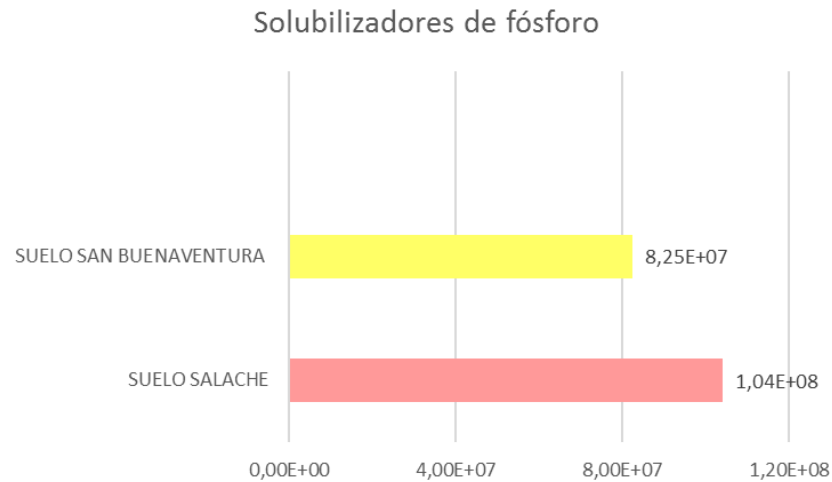


Gráfico 3 Hongos

**Elaborado por:** Wendy Acurio

**En el gráfico 2,** podemos ver que en la repetición cuatro la diferencia de la población de los hongos de Rosa de Bengala en el suelo de Salache,  $6,62 \times 10^7$  encontramos más población de hongos y en el suelo de San Buenaventura,  $5,19 \times 10^7$  no existe presencia de hongos. Según (Intriago, 2020) El rosa de bengala es un agente selectivo que inhibe el crecimiento de bacterias y limita el tamaño y la altura de los hongos con crecimiento rápido, lo que permite el desarrollo y la detección de otras levaduras de crecimiento más lento: los hongos aparecen de color rosado.

**Gráfico 3.** Concentración de colonias -AGAR RAMOS CALLAO- Solubilizadores de fósforo



*Gráfico 4 Solubilizadores de fósforo*

**Elaborado por:** Wendy Acurio

**En el gráfico 3,** podemos observar en la muestra de suelo que en Salache la repetición 5 es la que presenta más solubilizadores de fósforo con  $4,56 \times 10^7$  y en San Buenaventura con menor porcentaje tenemos la muestra de la repetición 1 con  $3,48 \times 10^7$ , para (Pineda, 2013) Los microorganismos solubilizadores de fosfato son un grupo funcional de PGPM que incluyen no sólo bacterias, sino hongos y actinomicetos con la capacidad solubilizar fosfatos minerales que han sido fijados en los suelos y que no pueden ser utilizados por las plantas en su nutrición; por ello su rol ecológico es esencial.

**Gráfico 4.** Concentración de colonias -AGAR EXTRACTO DEL SUELO- Degradadores de celulosa

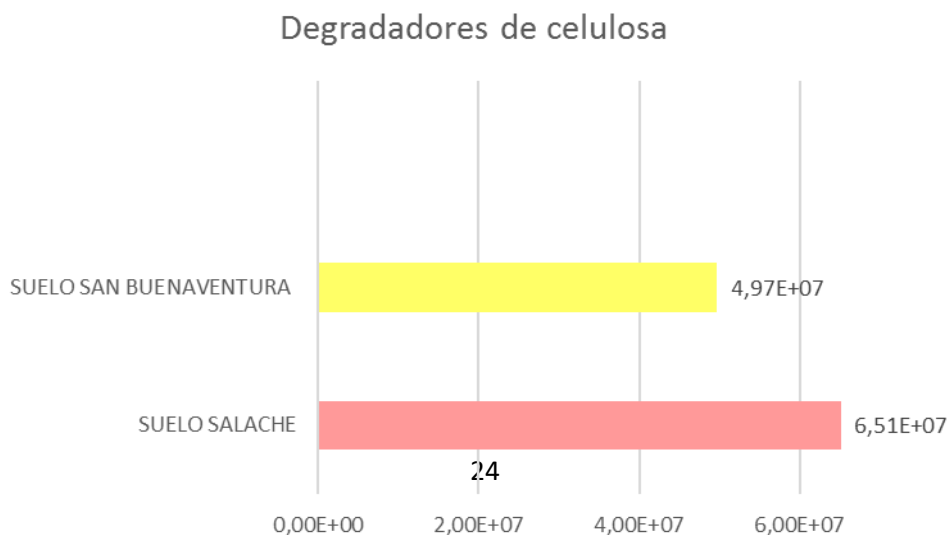


Gráfico 1 Degradadores de celulosa

Elaborado por: Wendy Acurio

En el gráfico 4. Podemos observar que la muestra de suelo de Salache tiene gran contenido de degradadores de celulosa en la repetición 6, con  $7,29 \times 10^7$ , en cambio en la muestra de San Buenaventura tenemos un contenido bajo de degradadores de celulosa, como se puede observar en la repetición 1, con  $5,74 \times 10^7$ .

Según, (Cruz C., 2011) en el mundo los residuos vegetales son el recurso renovable más grande que existe y están compuestos en su mayor parte por celulosa y hemicelulosa, sustancias que son degradadas por microorganismos.

Gráfico 5. Concentración de colonias -AGAR CASEÍNA- Actinomicetos

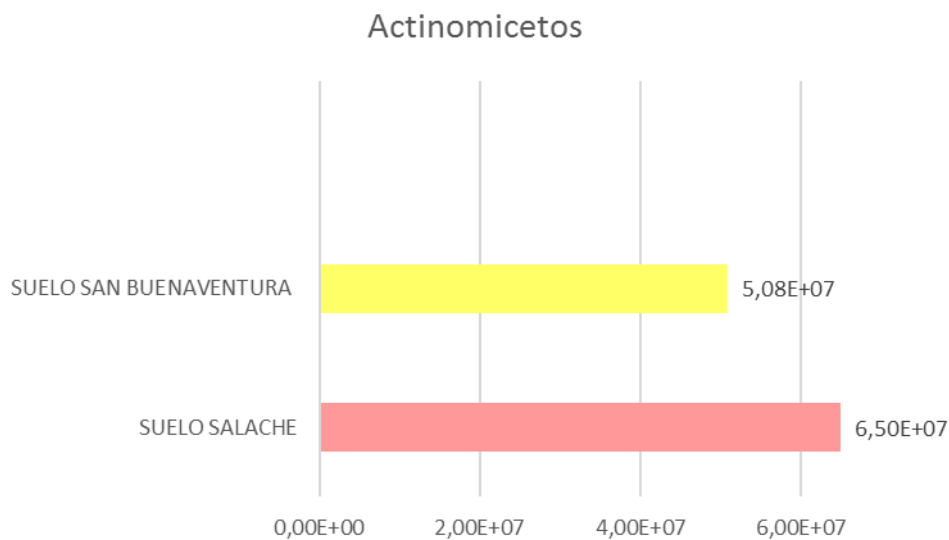


Gráfico 5 Actinomicetos

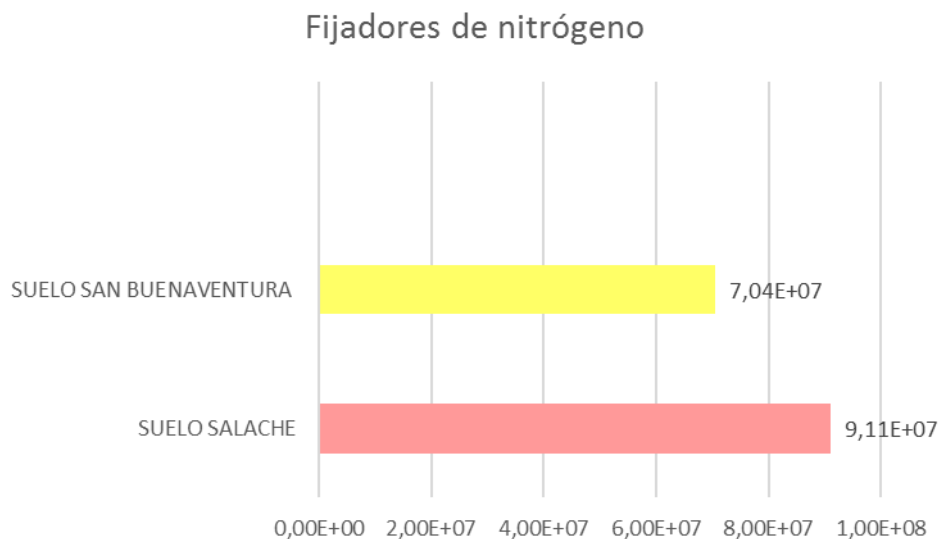
Elaborado por: Wendy Acurio

En el gráfico 5. Podemos observar que en el agar caseína, las muestras de suelo de Salache tienen más actividad de actinomicetos, con un porcentaje de  $6,38 \times 10^7$  en la repetición 6, en

cambio las muestras de suelo de San Buenaventura presentan una pequeña cantidad de actividad de actinomicetos, con un porcentaje de  $4,93 \cdot 10^7$  en la repetición 7.

Los actinomicetos son componentes habituales del suelo y de materia orgánica en descomposición. A través de los años han sido clasificados de diversas maneras; en un principio formaron parte de los hongos verdaderos, condición que en la actualidad es imposible porque sabemos que estos microorganismos son procariontes; tiempo después quedaron incluidos como protistas inferiores, considerándoseles como el “puente de unión con los hongos” debido a la similitud que tienen con ellos, ya que la mayoría presenta estructuras filamentosas. (Arahana Bonilla, 2019)

**Gráfico 6.** Concentración de colonias -WATANABE (fijadores de nitrógeno)



*Gráfico 6 fijadores de nitrógeno*

**Elaborado por:** Wendy Acurio

**En el gráfico 6.** Podemos observar Watanabe, que en las muestras del suelo de Salache se presenta una cantidad elevada de fijadores de nitrógeno en este caso en la repetición 1 tenemos,  $4,55 \cdot 10^7$  una gran cantidad de colonias, en cambio en las muestras del suelo de San Buenaventura tenemos una cantidad baja de fijadores de nitrógeno, en este caso la repetición 2 fue de  $3,56 \cdot 10^7$  con menor cantidad de colonias.

Como concepto, fijadoras de nitrógeno encontramos dos grupos de organismos. Al primer grupo pertenecen bacterias móviles del suelo, que son atraídas hacia la raíz por compuestos



que esta libera. Pertenecen al grupo de quimioorganotrofos aerobios y se denominan Rizobios. A este grupo pertenecen Rhizobium (nodulan en raíces de leguminosas de climas templados y subtropicales), Azorhizobium (nódulos en tallos y raíces) y Bradyrhizobium (nodula raíces de soja). Existen otros formadores de nódulos de fijación dudosa de nitrógeno como son: Phyllobacterium (forma nódulos en tallos y hojas de mirsináceas y rubiáceas) y Agrobacterium. (Esparza, 2009)

**Gráfico 7.** Concentración de colonias -B de King- Pseudomonas

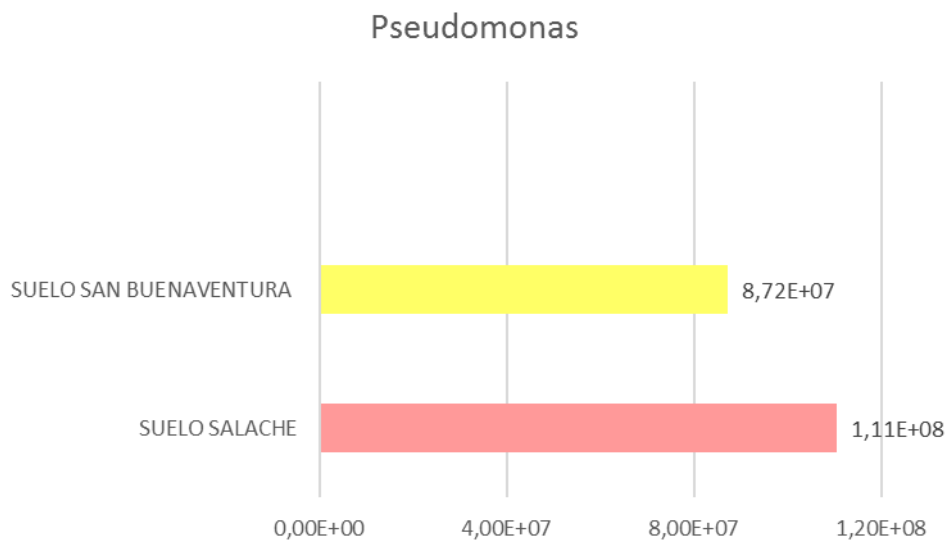


Gráfico 7 Pseudomonas

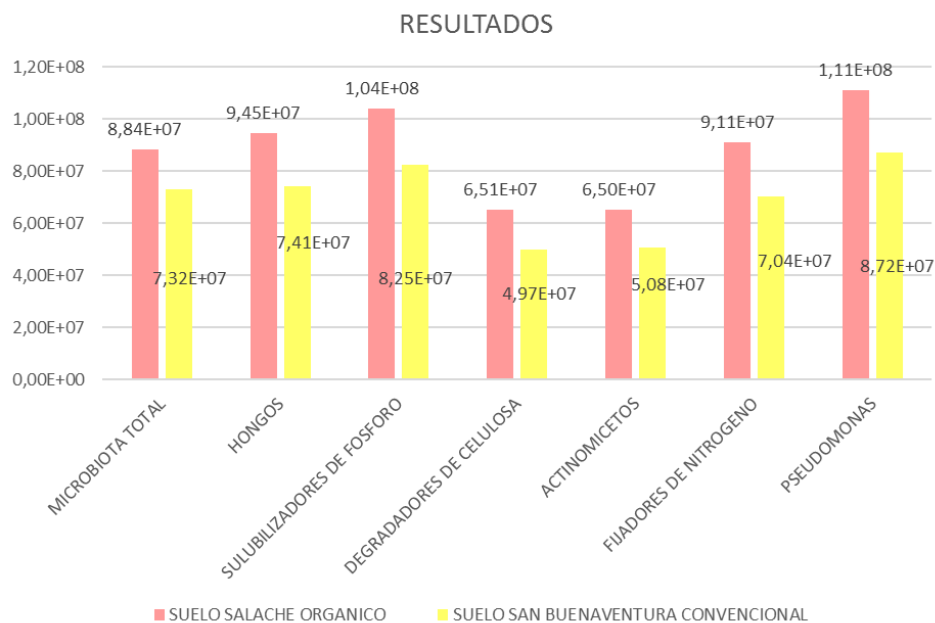
**Elaborado por:** Wendy Acurio

**En el gráfico 7.** Podemos observar que la diferencia de las dos muestras de suelo es evidente, en B de King, en las muestras de suelo de Salache, tenemos la mayoría de pseudomonas en la repetición 5, podemos observar que existen,  $5,37 \times 10^7$ , en cambio en las muestras de suelo de San Buenaventura tenemos en la repetición 1, la menos cantidad de pseudomonas con,  $5,13 \times 10^7$ .

Pseudomonas aeruginosa pertenece a la familia Pseudomonaceae. Se trata de un bacilo recto o ligeramente curvado Gram negativo, con un tamaño de  $2-4 \times 0,5-1$  micras, y móvil gracias a la presencia de un flagelo polar. En relación con su metabolismo, es aerobio (aunque puede desarrollarse en condiciones anaerobias utilizando nitrato), catalasa positiva y oxidasa positiva. Se caracteriza por producir una variedad de pigmentos, como la piocianina (de color azul

verdoso), la pioverdina (pigmento fluorescente de color verde amarillento) y la piorrubina (de color rojo).

**Gráfico 8. concentración de colonias – TOTAL DE LOS SIETE MEDIOS GRUPOS FUNCIONALES Y MEDIOS UTILIZADOS DOSIS EN SUELO 1 SALACHE Y SUELO 2 SAN BUENAVENTURA.**



*Gráfico 8 Total Bacterias y Hongos*

**Elaborado por:** Wendy Acurio

**En el gráfico 8.** Tenemos siete grupos funcionales los cuales son nuestros testigos, claramente se realizó con los mismos medios como son; Agar nutritivo, rosa de bengala, agar ramos callao, agar extracto de suelo, agar caseína, Watanabe, B de King. Tomando en cuenta siempre a nuestras dos muestras de suelo 1 Salache, 2 San Buenaventura. Se puede observar que existe diferencia entre los medios de los dos mencionados, ya que se existe una propagación de bacterias en Salache superior a la de San Buenaventura. Llegando así a mencionar que como tenemos dos tipos de suelo diferentes, la diferencia es notoria en Salache tenemos un suelo

orgánico, en cambio en San Buenaventura tenemos un suelo convencional al cual se le ha fumigado químicos como nitrógeno para las plantas.

### **11. Relación de la funcionalidad de estos grupos en las características fisicoquímicas del suelo.**

En primer lugar, el diseño implementado implica que es posible distinguir los resultados de los medios de cultivo de los resultados del laboratorio de Eurofinsagro. Por lo tanto, para los cálculos habría una sobreestimación de las dos muestras de suelo convencional y orgánico de San Buenaventura y Salache. Además, como las estimaciones se hicieron sobre microorganismos, la covarianza genética está determinada sólo por el gen 16S ADN, como ya se mencionó. Según los resultados obtenidos por el análisis de suelo del laboratorio de Eurofinsagro, se demuestra la existencia de fósforo en dos los suelos hortícolas convencional y orgánico, lo que se comprobó con los medios de cultivo es la existencia pseudomonas en alta cantidad del suelo, las pseudomonas producen un incremento de la disponibilidad de Fósforo y nitrógeno. ° 32Se obtienen las bacterias Arenimonas, que pertenecen al grupo funcional de bacterias fijadoras de nitrógeno, en los análisis de suelo se encontró alta cantidad de nitrógeno, donde existe la relación del estudio con los dos resultados

### **12. CONCLUSIONES**

Se identificó que las comunidades bacterianas del modelo orgánico fueron (Arenimonas 428,11), (Raoutella 314,03), (Lysobacter 214,05), (Rhizobium 189,90), (Legionella 175,89), (Mesorhizobium 172,03), (Devosia 160,02), (Paenisporosarana 159,07) y (Pseudoxanthomonas 155) y las comunidades bacterianas de la muestra de suelo de San Buenaventura, (Pseudomonas 397,03), (Citrobacter 301,82), (Klebsiella 290,01), (Reyranella 251,12), (Ramlibacter 192,18), (Mucilaginibacter 179,03), (Raoutella 160,2), (Lysobacter 150,03) y (Legionella 140,67).

Se estableció que las comunidades bacterianas con presencia en los dos modelos productivos fueron Raoutella en el modelo orgánico 314,03 lecturas y en el modelo convencional 160,2

lecturas, seguido de Lysobacter en el modelo orgánico y modelo convencional con 214,05 y 150,03 lecturas respectivamente

Se estableció que en el modelo orgánico de Salache existe mayor presencia de colonias bacterianas en los siete medios de cultivo.

Se presenta una relación entre las comunidad bacteriana de Pseudomonas y el grupo Solubilizadores de fosforo en su funcionalidad, y con el análisis químico donde se tiene un porcentaje de medio a alto de fosforo asimilable en el suelo

### 13. RECOMENDACIONES:

Se recomienda realizar análisis metagenómico de la filosfera de cultivares de los modelos de producción en estudio

Realizar el análisis de comunidades fúngicas y como inciden en la disponibilidad de nutrientes.

### 14. ANEXOS





## Bibliografía

- Arahana Bonilla, V. S. (2019). *Determinación de la microbiota del suelo en dependencia de la altitud y especies vegetales cultivadas*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/20393>
- Bejarano E., W. (s.f.). *SUELOS; MUESTREO; ANÁLISIS QUÍMICO*. Obtenido de Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Departamento de Suelos y Fertilizantes, 1989: <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/2554#:~:text=Se%20requiere%20un%20balde%20limpio,y%20en%20pastos%2010%20cm.>
- Bernal, O. C. (2014). *CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR*. Obtenido de PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS DE LA VIDA: <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/546/1/234741.pdf>
- Camacho, A. (03 de Marzo de 2019). *Agronet*. Obtenido de Estas son las amenazas que impulsan la degradación del suelo: <https://www.agronet.gov.co/Noticias/Paginas/Estas-son-las-amenazas-que-impulsan-la-degradaci%C3%B3n-del-suelo.aspx>
- Cruz C., N. C. (2011). *Degradación de celulosa y xilano por microorganismos aislados de dos tipos de compost de residuos agrícolas en la Sabana de Bogotá*. Obtenido de [https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias\\_hortcolas/article/view/1215](https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias_hortcolas/article/view/1215)
- Cruz, L. (2021). *Instituto de Ecología, A.C.* Obtenido de [necol.mx/inecol/index.php/es/2017-06-26-16-35-48/17-ciencia-hoy/699-los-microbios-de-las-plantas-una-mirada-a-la-biotecnologia#:~:text=Microbios%20que%20consienten%20a%20las,incrementan%20la%20disponibilidad%20de%20f%C3%B3sforo.](https://necol.mx/inecol/index.php/es/2017-06-26-16-35-48/17-ciencia-hoy/699-los-microbios-de-las-plantas-una-mirada-a-la-biotecnologia#:~:text=Microbios%20que%20consienten%20a%20las,incrementan%20la%20disponibilidad%20de%20f%C3%B3sforo.)

- Cutiño, A. (s.f.). *Marcadores moleculares en bacterias*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/329488173\\_Marcadores\\_moleculares\\_en\\_bacterias\\_de\\_importancia\\_agricola\\_de\\_la\\_familia\\_Xanthomonadaceae](https://www.researchgate.net/publication/329488173_Marcadores_moleculares_en_bacterias_de_importancia_agricola_de_la_familia_Xanthomonadaceae)
- Esparza, G. (Julio de 2009). *Propiedades generales de los actinomicetos*. Obtenido de <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1529&sectionid=98865575>
- García, S. (16 de Marzo de 2015). *ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL: LAS HORTALIZAS Y VERDURAS FRESCAS*. Obtenido de <https://agarciasantos.wordpress.com/2015/03/16/alimentos-de-origen-vegetal-las-hortalizas-y-verduras-frescas/>
- Gutiérrez, S. (2008). *Preparación de medios de Cultivo*. Obtenido de [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/10\\_Preparacion\\_de\\_medios\\_de\\_cultivo.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Preparacion_de_medios_de_cultivo.pdf)
- Guzmán Estrada, E. A. (14 de Mayo de 2012). *CARACTERIZACIÓN; BACTERIAS SOLUBILIZADORAS; FÓSFORO; SUELOS AGRÍCOLAS; CHIMBORAZO (PROVINCIA)*. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1827>
- Huter, J. (03 de Febrero de 2023). *Glosario parlante de términos genómicos y genéticos Bacteria*. Obtenido de <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Bacteria>
- Intriago, C. (2020). *Compuesto Rosa de Bengala*. Obtenido de <file:///C:/Users/USER/Downloads/Agar%20Sabourad%20Rosa%20de%20Bengala.pdf>
- Javier, C. A. (2021). *Repositorio*. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8264/1/PC-002148.pdf>
- López, A. P. (Julio de 2017). *Rizobacterias promotoras del crecimiento*. Obtenido de <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/5766/Rizobacterias+promotoras+del+crecimiento+vegetal.pdf?sequence=1>
- M., A. F. (2004). *Historia del cultivo de hortalizas y vegetales*. Obtenido de <https://curiosfera-historia.com/origen-e-historia-del-cultivo-de-hortalizas-y-vegetales/#:~:text=El%20cultivo%20de%20hortaliza%20apareci%C3%B3,y%20posteriormente%20en%20los%20Andes.>
- Maps, G. (2023). *Google Maps*. Obtenido de Google Maps: <https://www.google.com.ec/maps/@-0.1615789,-78.4845747,19z?hl=es>
- Maricela, O. F. (2021). *Tesis de grado de la Ingeniería Agronómica*. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8074/1/PC-002102.pdf>
- Márquez, A. (22 de Febrero de 2021). *Rizosfera: qué es, para qué sirve, composición e importancia*. Obtenido de <https://www.ecologiaverde.com/rizosfera-que-es-para-que-sirve-composicion-e-importancia-3266.html>
- Martínez, J. (2016). *RIZOSFERA*. Obtenido de <https://symborg.com/es/proteccion-suelos/rizosfera/#:~:text=La%20rizosfera%20es%20la%20zona,nutrientes%2C%20sustancias%20org%C3%A1nicas%20y%20agua.>
- Martínez, J. (s.f.). *Bacterias Fijadoras de Nitrogeno*. Obtenido de <https://symborg.com/es/bacterias-fijadoras-de-nitrogeno/>

- MONTOYA, D. O. (29 de 11 de 2011). *CONSORCIOS MICROBIANOS*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfce/v18n2/v18n2a04.pdf>
- Naranjo, R. P. (2018). *INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA*. Obtenido de <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/H10-10789.PDF>
- Palacios, A. (2017). *Tipo de variedades en las hortalizas con mayor produccion en el Ecuador*. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/277/T-UTB-FACIAG-AGR-000066.02.pdf?sequence=8&isAllowed=y#:~:text=INTRODUCCI%C3%93N-,En%20el%20Ecuador%2C%20la%20producci%C3%B3n%20de%20hortalizas%20est%C3%A1%20proyect%C3%A1ndose%20con,en%20este%20important>
- Pineda, M. E. (17 de 07 de 2013). *La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v15n1/v15n1a09.pdf>
- Rodriguez, D. L. (2023). *Laboratorio*. Obtenido de <pdf/eurofinsagro>
- Roskov, Y. (2009). *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad*. Obtenido de <https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/gfamilia/4/index>
- Rüden, D. (2019). *Auafree*. Obtenido de <https://www.aqua-free.com/es/revista/que-son-pseudomonas>
- Sánchez F., E. P., & R, N. (01 de Mayo de 2017). *Simulación y Conteo de Unidades Formadoras de Colonias*. Obtenido de ReCIBE. Revista electrónica de Computación, Informática, Biomédica y Electrónica, vol: <https://www.redalyc.org/pdf/5122/512254534006.pdf>
- Vatsyayana, M. (05 de Diciembre de 2020). *LA FAO*. Obtenido de La biodiversidad de los suelos es ignorada, pero es fundamental para alimentar al planeta: <https://news.un.org/es/story/2020/12/1485132#:~:text=Seg%C3%BAn%20el%20informe%2C%20el%20uso,y%20una%20mayor%20seguridad%20alimentaria>.
- Vega, J. (s.f.). *Microorganismos del suelo y biofertilización*. Obtenido de Asociación Vida Sana: [https://cultivos-tradicionales.com/upload/file/dossier-5\\_microorganismos-del-suelo-y-biofertilizacion-2.pdf](https://cultivos-tradicionales.com/upload/file/dossier-5_microorganismos-del-suelo-y-biofertilizacion-2.pdf)
- Villalobos, J. (2017). *Monografías de Medicina Veterinaria, Vol.5, N°2, diciembre 1983*. Obtenido de Universidad de Chile: [https://web.uchile.cl/vignette/monografiasveterinaria/monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon\\_vet\\_simple/0,1420,SCID%253D7631%2526ISID%253D410%2526PRT%253D7627,00.html#:~:text=Bacterias%20Celulol%C3%ADticas%3A%20Estas%20bacterias%20tienen,\(disac%C3%A1rid](https://web.uchile.cl/vignette/monografiasveterinaria/monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_simple/0,1420,SCID%253D7631%2526ISID%253D410%2526PRT%253D7627,00.html#:~:text=Bacterias%20Celulol%C3%ADticas%3A%20Estas%20bacterias%20tienen,(disac%C3%A1rid)
- Zaro, I. (2019). *Biología avanzada (AP Biology)*. Obtenido de Khan Academy: <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/chemistry-of-life/elements-of-life/a/functional-groups>
- 亞歷山德拉膠水. (2019). *Diluciones seriadas*. Obtenido de cognita conecta: <https://www.facebook.com/cognitaconecta/photos/a.133089261453573/721900465905780/?type=3&theater>

## PROTOCOLO GRUPO FUNCIONAL Y MEDIO UTILIZADO

<b>GRUPO FUNCIONAL Y MEDIO UTILIZADO DOSIS</b>	
<b>POBLACIÓN TOTAL DE BACTERIAS</b>	
<u>AGAR NUTRITIVO</u>	
<ul style="list-style-type: none"><li>• Agua destilada</li><li>• Agar nutritivo</li><li>• Ph</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 800 ml</li><li>• 16 g/l</li><li>• 7.0</li></ul>
<b>PROCEDIMIENTO:</b>  En un frasco con tapa se coloca 800 ml de agua destilada y se pesan 16 g de agar nutritivo. Se lo lleva a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizándolo en 7.0 con el uso de ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio 1N. Se esteriliza en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.	
<b>POBLACIÓN TOTAL DE HONGOS</b>	
<u>AGAR ROSA DE BENGALA</u>	



<ul style="list-style-type: none"> <li>• D – Glucosa</li> <li>• Peptona micológica</li> <li>• Fosfato monopotásico</li> <li>• Sulfato de magnesio hidratado</li> <li>• Rosa de bengala</li> <li>• Estreptomicina</li> <li>• Agar</li> <li>• Agua destilada</li> <li>• Ph</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 8 g/l</li> <li>• 4 g/l</li> <li>• 0.8 g/l</li> <li>• 0.4 g/l</li> <li>• 0.028 g /l</li> <li>• 24 mg/l</li> <li>• 12 g/l</li> <li>• 800 ml</li> <li>• 5.5</li> </ul>
---	--

**PROCEDIMIENTO:**

En un recipiente con tapa se coloca 800 ml de agua destilada en la que se va colocando todos los reactivos en las cantidades establecidas, excepto la estreptomicina. Se lo lleva a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizándolo en 5.5 con el uso de ácido clorhídrico diluido o hidróxido de sodio en solución. Se esteriliza en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.

Luego, la estreptomicina se diluye en 24 ml de agua y se la añade antes de dispensar el medio en las respectivas cajas, con la ayuda de una jeringuilla y un filtro. La estreptomicina inhibe el desarrollo y crecimiento de bacterias, permitiendo que solo los hongos aparezcan.

**BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO**

AGAR RAMOS CALLAO

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extracto de levadura</li> <li>• Glucosa</li> <li>• Fosfato tricálcico</li> <li>• Agua destilada</li> <li>• Agar</li> <li>• Ph</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1.6 g/l</li> <li>• 16 g/l</li> <li>• 1.6 g/l</li> <li>• 800 ml</li> <li>• 17.6 g/l</li> <li>• 7</li> </ul>
---	---

**PROCEDIMIENTO:**

En un recipiente con tapa se coloca 800 ml de agua destilada en la que se va colocando el extracto de levadura, la glucosa y el fosfato tricálcico, en las cantidades indicadas. Se lo lleva a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizándolo en 7.0 con el uso de ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio 1 N, se añade el agar y luego se lo esteriliza en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.

**BACTERIAS CELULOLÍTICAS**AGAR EXTRACTO DE SUELO

• Fosfato dibásico de potasio ( $\text{PO}_4\text{HK}_2$ )	• 0.4 g/l
• Nitrato de amonio ( $\text{NO}_3\text{NH}_4$ )	• 0.12 g/l
• Carboximetilcelulosa	• 1 g/l
• Agar	• 16 g/l
• Extracto de suelo	• 80 ml
• Ph	• 6.5

**PROCEDIMIENTO:**

En un recipiente con tapa se coloca 6500 ml de agua destilada en la que se va colocando el fosfato dibásico de potasio y el nitrato de amonio en las cantidades indicadas. Los 650 ml van en función de los restantes volúmenes que se van a utilizar (carboximetilcelulosa y extracto de suelo).

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

El extracto de suelo se obtiene mediante la recolección de tierra de jardín rica en humus. Se limpia la hojarasca o impurezas de la superficie, se toma aproximadamente 1 kilogramo de suelo el mismo que se tamiza a una malla menor a 2 mm, hasta obtener una muestra de 500 gramos. Luego en 400 ml de agua corriente se coloca el suelo y se agita bien. Se esteriliza en erlenmeyer amplio en la autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión. Se lo retira y se deja decantar lo suficiente para luego filtrar a través de papel Whatman (papel filtro) en una bomba de vacío por lo menos dos veces. El filtrado es llevado a la centrífuga, a 3600 rpm, por 20

minutos. De la solución final se toma 100 ml y se añade a la solución inicial del medio de cultivo, se lo lleva a la agitadora y se regula el pH a 6.5, al final se añade el agar. El medio se esteriliza en la autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.

## **ACTINOMICETOS**

### AGAR CASEÍNA

• Almidón soluble	• 8 g
• Caseína	• 0.8 g
• KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	• 0.4 g
• Agar	• 8 g
• Ph	• 7.1

### **PROCEDIMIENTO:**

En un recipiente con tapa se coloca 750 ml de agua destilada, se coloca la caseína, el fosfato monopotásico. El almidón debe ser diluido a parte al calor en 50 ml de agua destilada hasta que esté transparente, sin llegar a ebullición, entonces se lo pasa a la formulación final. Se lo lleva a la agitadora, se estabiliza el pH en 7.0, y se coloca el agar, para luego esterilizar en la autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.

## **BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO**

<u>WATANABE</u>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glucosa</li> <li>• Manitol</li> <li>• Almidón</li> <li>• Ácido málico</li> <li>• Agar</li> <li>• pH</li> <li>• Solución II</li> <li>• Solución III</li> <li>• Bromotimol azul al 1% en etanol</li> <li>• Agua destilada</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 4 g/l</li> <li>• 4 g/l</li> <li>• 3.6 g/l</li> <li>• 2.8 g/l</li> <li>• 1.4 g/l</li> <li>• 6.8 – 7.2</li> <li>• 40 ml</li> <li>• 12 ml</li> <li>• 1.6 ml</li> <li>• Aforar a 800 ml</li> </ul>
<p>SOLUCIÓN I</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>H_3BO_3</math></li> <li>• <math>ZnSO_4 \cdot 7H_2O</math></li> <li>• <math>CoSO_4 \cdot 7H_2O</math></li> <li>• <math>CuSO_4 \cdot 4H_2O</math></li> <li>• <math>MnCl_2 \cdot 4H_2O</math></li> <li>• Agua destilada</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 600 mg/l</li> <li>• 440 mg/l</li> <li>• 280 mg/l</li> <li>• 17.44 mg/l</li> <li>• 16 mg/l</li> <li>• 800 ml</li> </ul>
<p>SOLUCIÓN II</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>FeSO_4 \cdot 7H_2O</math></li> <li>• <math>MgSO_4 \cdot 7H_2O</math></li> <li>• <math>Na_2MoO_4 \cdot 7H_2O</math></li> <li>• <math>CaCl_2 \cdot 2H_2O</math></li> <li>• EDTA ácido</li> <li>• Solución I</li> <li>• Agua destilada</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0.64 g/l</li> <li>• 3.2 g/l</li> <li>• 0.0944 g/l</li> <li>• 3.2 g/l</li> <li>• 0.64 g/l</li> <li>• 3.2 ml/l</li> <li>• 800 ml</li> </ul>
<p>SOLUCIÓN III</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>KH_2PO_4</math></li> <li>• <math>K_2HPO_4</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 32 g/l</li> <li>• 48 g/l</li> </ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agua destilada</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 800 ml</li> </ul>
<p><b>PROCEDIMIENTO:</b></p> <p>Para preparar 800 ml de medio watanabe se mide 400 ml de agua destilada en una botella con tapa rosca, se coloca la glucosa, el manitol y el ácido málico. El almidón se diluye al calor en 50 ml de agua destilada, una vez bien diluido se lo añade al medio, tomando en cuenta todos los volúmenes agregados. Se añade las soluciones II y III (tomando los reactivos en las cantidades indicadas) se toman los volúmenes especificados y se añade al medio de cultivo.</p> <p>El bromotimol azul al 1% en etanol se prepara pesando 1 g de este reactivo y diluyendo en 100 ml de etanol; de lo cual se toma 2 ml en 800 ml de medio, con la ayuda de una pipeta.</p> <p>Se suman los volúmenes indicados y se descuentan para saber la cantidad faltante para completar 800 ml. Se nivela el pH entre 6.8 y 7.2 y se coloca el agar.</p> <p>Se coloca 6 ml en cada tubo y se esteriliza a 15 libras por 15 minutos en el autoclave. Luego dentro de la cámara de flujo se siembran 0.2 ml de la dilución de la muestra correspondiente.</p>	
<p><b>PSEUDOMONAS</b></p> <p><u>B DE KING</u></p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peptona</li> <li>• Agar purificado</li> <li>• K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (anhidro)</li> <li>• MgSO<sub>4</sub>. 7 H<sub>2</sub>O (anhidro))</li> <li>• Solubilizante</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 16 g/l</li> <li>• 9.6 g/l</li> <li>• 1.2 g/l</li> <li>• 1.2 g/l</li> <li>• 800ml</li> </ul>
<p><b>COMPOSICIÓN TEÓRICA</b> (g/l de agua destilada) El medio King B se elabora de acuerdo con la fórmula teórica descrita por King, Ward y Raney.</p>	

**Fuente:** (Javier, 2021)

### ANEXOS Y RECOLECCIÓN DE MUESTRA

CAJA 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE S1.1	3	2	5	2	3	10	1	0	1	1	2	2	32	2,6	5,0	7,97E+11		
CUADRANTE S2.1	0	1	7	4	7	6	3	1	0	1	0	1	31					
<b>CAJA A2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S.1.2	3	2	2	2	3	5	8	1	2	18	1	0	47	3,5				
CUADRANTE S2.2	0	1	1	1	1	3	6	0	3	9	4	8	37					
<b>CAJA 3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S.1.3	8	4	1	1	8	1	1	9	1	1	10	1	46	3,6				
CUADRANTE S2.3	1	4	2	3	6	3	1	6	5	6	1	3	41					
<b>CAJA A4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.4	31	7	6	4	10	6	20	0	5	20	6	1	116	6,1				
CUADRANTE S2.4	1	1	0	0	4	10	2	0	0	2	0	10	30					
<b>CAJA A5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.5	0	0	2	3	3	4	1	0	8	42	6	0	69	4,6				
CUADRANTE S2.5	3	4	0	0	4	2	4	0	4	14	6	0	41					
<b>CAJA A6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.6	2	16	4	23	14	26	13	4	25	7	2	4	140	9,375				
CUADRANTE S2.6	1	6	12	6	7	8	8	14	2	12	8	1	85					

CAJA A7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
CUADRANTE S1.7	1	4	2	2	10	3	1	2	4	44	2	4	79	5,1
CUADRANTE S2.7	12	1	3	2	1	0	0	9	0	1	5	9	43	

MEDIO DE CULTIVO	AGAR NUTRITIVO		
GRUPO FUNCIONAL	POBLACION TOTAL DE BACTERIAS		
VARIEDAD	HORTALIZAS		
ALTITUD	2700 MSNM Y 2770 MSNM		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO, RAIZ		
	SUELO SALACHE		SUELO SAN BUENAVENTURA
S1.1	110	S2.1	90
S1.2	100	S2.2	85
S1.3	107	S2.3	80
S1.4	116	S2.4	85
S1.5	121	S2.5	96
S1.6	140	S2.6	85
S1.7	112	S2.7	90

**Elaborado por:** (Acurio Wendy)

<b>CAJA 1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE S1.1	3	2	5	2	3	8	1	4	4	1	2	2	37	2,6	4,7	7,46E+11		
CUADRANTE S2.1	2	1	2	4	3	6	3	1	0	1	1	1	25					
<b>CAJA A2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S.1.2	5	2	2	2	3	5	7	1	2	16	1	0	46	3,2				
CUADRANTE S2.2	0	1	1	1	1	3	2	0	3	7	4	8	31					
<b>CAJA 3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S.1.3	6	4	1	1	6	1	1	9	1	1	10	1	42	3,3				
CUADRANTE S2.3	1	3	2	3	4	3	1	6	5	6	1	3	38					
<b>CAJA A4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.4	11	7	6	4	15	7	10	0	5	17	6	1	89	5,3				
CUADRANTE S2.4	2	1	4	0	11	7	2	0	0	2	0	10	39					
<b>CAJA A5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.5	10	12	2	3	3	4	1	0	8	24	6	10	83	5,7				
CUADRANTE S2.5	3	4	1	0	4	2	4	0	4	18	6	8	54					
<b>CAJA A6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.6	2	12	4	12	14	16	10	4	22	4	2	14	116	8,4				
CUADRANTE S2.6	1	6	12	6	7	8	8	14	2	12	8	2	86					
<b>CAJA A7</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.7	1	4	2	2	12	3	1	6	4	23	2	4	64	4,0				



CUADRANTE S2.7	2	1	3	2	1	0	0	9	0	1	5	9	33			
----------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	--	--	--

MEDIO DE CULTIVO	ROSA DE BENGALA		
GRUPO FUNCIONAL	POBLACION TOTAL DE HONGOS		
VARIEDAD	HORTALIZAS		
ALTITUD	2700 MSNM Y 2770 MSNM		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO, RAIZ		
	SUELO SALACHE		SUELO SAN BUENAVENTURA
S1.1	90	S2.1	70
S1.2	95	S2.2	72
S1.3	97	S2.3	69
S1.4	89	S2.4	75
S1.5	83	S2.5	75
S1.6	116	S2.6	80
S1.7	92	S2.7	78

**Elaborado por:** (Acurio Wendy)

CAJA 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE S1.1	3	2	8	2	3	4	1	0	4	8	2	2	39	2,4	4,2	6,71E+11		
CUADRANTE S2.1	1	1	2	4	1	6	0	1	0	1	0	1	18					
CAJA A2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S1.2	6	2	2	4	3	5	8	1	2	10	1	0	44	3,3				
CUADRANTE S2.2	2	1	1	1	1	3	6	2	3	2	4	8	34					
CAJA 3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S.1.3	2	4	8	2	8	1	1	10	2	1	10	1	50	3,9				
CUADRANTE S2.3	1	4	2	3	6	3	1	6	5	6	4	3	44					
CAJA A4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S1.4	10	7	6	4	8	6	8	0	5	12	6	1	73	4,3				
CUADRANTE S2.4	1	1	0	0	4	10	2	0	0	2	0	10	30					
CAJA A5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S1.5	2	2	2	3	3	4	1	0	8	12	6	0	43	3,4				
CUADRANTE S2.5	3	1	0	0	4	2	4	0	4	14	6	0	38					
CAJA A6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S1.6	2	16	4	10	12	8	13	4	12	7	2	4	94	7,45833333				
CUADRANTE S2.6	1	6	12	6	7	8	8	14	2	12	8	1	85					
CAJA A7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S1.7	1	8	2	2	12	3	1	2	4	22	2	4	63	4,7				

CUADRANTE S2.7	12	1	3	3	1	1	1	9	4	1	5	9	50			
----------------	----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	--	--	--

MEDIO DE CULTIVO	AGAR RAMOS CALLAO		
GRUPO FUNCIONAL	POBLACION TOTAL DE BACTERIAS		
VARIEDAD	HORTALIZAS		
ALTITUD	2700 MSNM Y 2770 MSNM		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO, RAIZ		
	SUELO SALACHE		SUELO SAN BUENAVENTURA
S1.1	65	S2.1	50
S1.2	64	S2.2	49
S1.3	55	S2.3	44
S1.4	73	S2.4	48
S1.5	67	S2.5	52
S1.6	69	S2.6	55
S1.7	63	S2.7	50

**Elaborado por:** (Acurio Wendy)

CUADRANTE S1.1	4	4	6	4	3	8	1	4	1	2	4	2	43	2,9	4,8	7,68E+11		
CUADRANTE S2.1	2	1	4	4	7	3	3	1	0	1	0	1	27					
<b>CAJA A2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S.1.2	4	3	4	4	3	5	7	12	2	12	1	4	61	4,2				
CUADRANTE S2.2	0	2	2	3	1	3	6	0	3	7	4	8	39					
<b>CAJA 3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S.1.3	8	4	2	2	9	1	10	9	1	1	12	1	60	4,0				
CUADRANTE S2.3	2	4	2	3	3	3	1	6	3	6	1	3	37					
<b>CAJA A4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.4	20	2	4	2	6	6	12	2	5	16	6	14	95	5,1				
CUADRANTE S2.4	1	1	0	0	4	4	2	1	3	2	0	10	28					
<b>CAJA A5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.5	16	8	3	2	5	4	6	0	8	22	6	28	108	6,1				
CUADRANTE S2.5	3	4	0	0	4	2	4	0	4	12	6	0	39					
<b>CAJA A6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.6	4	16	9	24	10	8	6	4	8	7	2	4	102	7,25				
CUADRANTE S2.6	1	8	3	13	18	4	3	14	2	1	4	1	72					
<b>CAJA A7</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.7	2	5	5	2	10	12	1	2	4	8	2	4	57	4,0				
CUADRANTE S2.7	3	1	2	2	1	2	4	8	0	1	5	9	38					

MEDIO DE CULTIVO	AGAR EXTRACTO DEL SUELO		
GRUPO FUNCIONAL	POBLACION TOTAL DE BACTERIAS		
VARIEDAD	HORTALIZAS		
ALTITUD	2700 MSNM Y 2770 MSNM		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO, RAIZ		
	SUELO SALACHE		SUELO SAN BUENAVENTURA
S1.1	112	S2.1	77
S1.2	115	S2.2	78
S1.3	98	S2.3	82
S1.4	95	S2.4	88
S1.5	108	S2.5	75
S1.6	102	S2.6	89
S1.7	99	S2.7	89

**Elaborado por:** (Acurio Wendy)

CAJA 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	SUMATORIA	SUMATORIA/40	TOTAL	FORMULA		
CUADRANTE S1.1	3	2	5	2	3	8	1	9	1	1	2	2	39	2,7	5,0	8,07E+11		
CUADRANTE S2.1	0	1	1	4	7	6	3	1	0	1	1	1	26					
CAJA A2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S.1.2	3	2	4	2	3	5	8	10	2	18	22	0	79	4,9				
CUADRANTE S2.2	0	4	2	1	1	3	6	0	1	9	4	8	39					
CAJA 3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S.1.3	8	4	14	1	8	1	2	9	1	1	22	1	72	4,6				
CUADRANTE S2.3	1	4	2	3	4	3	0	6	5	6	1	3	38					
CAJA A4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S1.4	12	7	6	4	20	4	8	0	5	22	6	1	95	5,4				
CUADRANTE S2.4	1	1	4	0	4	10	2	0	2	2	4	4	34					
CAJA A5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S1.5	2	18	2	4	3	4	1	0	8	20	6	0	68	4,5				
CUADRANTE S2.5	1	4	0	2	4	2	4	0	4	14	6	0	41					
CAJA A6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S1.6	2	16	4	7	9	12	10	4	20	7	2	4	97	6,6				
CUADRANTE S2.6	1	6	1	6	7	8	8	2	2	12	8	1	62					
CAJA A7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
CUADRANTE S1.7	1	20	22	2	8	3	1	2	4	8	22	4	97	6,5				

CUADRANTE S2.7	8	11	14	2	1	2	0	9	0	1	3	9	60			
----------------	---	----	----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	--	--	--

MEDIO DE CULTIVO	AGAR CASEINA		
GRUPO FUNCIONAL	POBLACION TOTAL DE BACTERIAS		
VARIEDAD	HORTALIZAS		
ALTITUD	2700 MSNM Y 2770 MSNM		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO, RAIZ		
	SUELO SALACHE		SUELO SAN BUENAVENTURA
S1.1	88	S2.1	66
S1.2	85	S2.2	68
S1.3	87	S2.3	69
S1.4	95	S2.4	78
S1.5	89	S2.5	74
S1.6	97	S2.6	72
S1.7	97	S2.7	66

**Elaborado por:** (Acurio Wendy)

<b>CAJA 1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	SUMATORI	SUMATORIA/4	TOTA	FORMULA		
													A	0	L			
CUADRANTE S1.1	4	2	8	2	3	9	1	10	8	1	4	2	54	3,4	5,4	8,66E+11		
CUADRANTE S2.1	0	1	4	4	1	6	3	4	0	1	2	1	27					
<b>CAJA A2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S.1.2	8	4	4	4	3	15	8	1	2	22	1	0	72	4,9				
CUADRANTE S2.2	2	2	2	2	1	9	6	0	3	10	4	4	45					
<b>CAJA 3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S.1.3	10	8	8	1	8	10	1	10	1	20	10	1	88	6,2				
CUADRANTE S2.3	6	4	6	3	6	7	1	6	1	12	5	3	60					
<b>CAJA A4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.4	12	12	12	4	8	5	4	0	5	22	6	1	91	6,1				
CUADRANTE S2.4	4	8	6	0	4	10	2	0	0	10	2	9	55					
<b>CAJA A5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.5	10	11	22	3	3	4	1	20	8	6	6	0	94	6,5				
CUADRANTE S2.5	3	4	12	2	4	2	4	0	4	22	6	0	63					
<b>CAJA A6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.6	2	4	4	21	14	6	13	4	12	7	4	4	95	6,4				



CUADRANTE S2.6	1	2	12	10	7	4	8	2	1	3	8	1	59	
<b>CAJA A7</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>		
CUADRANTE S1.7	18	22	2	2	3	3	1	12	4	4	2	4	77	4,4
CUADRANTE S2.7	9	1	3	2	1	0	0	2	0	1	1	9	29	

MEDIO DE CULTIVO	WATANABE		
GRUPO FUNCIONAL	POBLACION TOTAL DE BACTERIAS		
VARIEDAD	HORTALIZAS		
ALTITUD	2700 MSNM Y 2770 MSNM		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO, RAIZ		
	SUELO SALACHE		SUELO SAN BUENAVENTURA
S1.1	54	S2.1	50
S1.2	62	S2.2	49
S1.3	77	S2.3	48
S1.4	75	S2.4	52
S1.5	58	S2.5	51

S1.6	59	S2.6	59
S1.7	70	S2.7	47

**Elaborado por:** (Acurio Wendy)

CAJA 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	SUMATORI	SUMATORIA/4	TOTA	FORMULA		
													A	0	L			
CUADRANTE S1.1	8	2	10	20	3	10	1	0	1	1	2	2	60	4,3	5,2	8,30E+11		
CUADRANTE S2.1	1	1	7	12	7	8	3	1	0	1	1	1	43					
<b>CAJA A2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S.1.2	2	2	4	4	5	7	8	12	2	18	9	10	83	5,6				
CUADRANTE S2.2	1	1	3	2	4	5	6	9	3	9	4	4	51					
<b>CAJA 3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S.1.3	8	4	4	4	8	8	8	10	8	8	10	8	88	5,5				
CUADRANTE S2.3	1	4	2	3	6	3	4	6	5	6	1	3	44					
<b>CAJA A4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						
CUADRANTE S1.4	22	8	2	4	10	6	9	0	5	12	12	1	91	4,7				
CUADRANTE S2.4	1	1	0	0	4	10	2	0	0	2	0	1	21					
<b>CAJA A5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>						

CUADRANTE S1.5	4	10	8	3	5	4	1	24	8	22	6	2	97	6,0
CUADRANTE S2.5	3	4	0	0	4	2	4	8	4	14	4	0	47	
<b>CAJA A6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>		
CUADRANTE S1.6	2	8	4	18	8	19	13	4	9	7	2	4	98	6,4
CUADRANTE S2.6	1	6	1	6	7	8	8	7	2	1	8	1	56	
<b>CAJA A7</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>		
CUADRANTE S1.7	12	4	3	2	5	3	1	2	4	22	2	4	64	3,9
CUADRANTE S2.7	1	1	1	1	1	0	0	9	0	1	5	9	29	

MEDIO DE CULTIVO	B DE KING
GRUPO FUNCIONAL	POBLACION TOTAL DE BACTERIAS
VARIEDAD	HORTALIZAS
ALTITUD	2700 MSNM Y 2770 MSNM

**Elaborado por:** (Acurio Wendy)