



UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“ANÁLISIS DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*). VAR. SUPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm, COTOPAXI, 2021”

**Proyecto de investigación presentado previo a la obtención del Título de
Ingeniera Agrónoma**

Autor:

Nasimba Chanataxi Nathalia Belen

Tutor:

Chasi Vizquete Paolo Wilman Ing. M.Sc.

LATACUNGA - ECUADOR

Agosto 2021

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Nathalia Belen Nasimba Chanataxi, con cédula de ciudadanía No. 175246769-4, declaro ser autora del presente proyecto de investigación: **“Análisis de consorcios bacterianos y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*). Var super chola en el piso altitudinal de 3800 msnm, Cotopaxi 2021”**, siendo el Ing M Sc. Wilman Paolo Chasi Vizuite, Tutor del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

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

Latacunga, 19 de agosto del 2021

Nasimba Chanataxi Nathalia Belen

Estudiante

CC: 175246769-4

Ing M.Sc. Wilman Paolo Chasi Vizuite

Docente Tutor

CC: 0502409725

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **NASIMBA CHANATAXI NATHALIA BELEN**, identificada con cédula de ciudadanía **1752467694**, de estado civil soltera a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jimenez,, 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 consorcios bacterianos y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*). Var super chola en el piso altitudinal de 3800 msnm, Cotopaxi 2021”** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial académico.-

Inicio de la carrera: Abril 2016 - Agosto 2016

Finalización de la carrera: Agosto 2021

Aprobación en Consejo Directivo.- 20 de mayo del 2021

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

Tema: **“Análisis de consorcios bacterianos y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*). Var super chola en el piso altitudinal de 3800 msnm, Cotopaxi 2021”**

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

investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

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

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

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

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

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

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

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

CLÁUSULA NOVENA.- El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en 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 19 días del mes de Agosto del 2021.

Nathalia Belen Nasimba Chanataxi

LA CEDENTE

Ing Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez

LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“ANÁLISIS DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*solanum tuberosum*), Var. SÚPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm” de Nasimba Chanataxi Nathalia Belen, 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, 19 de agosto del 2021

Ing M.sc. Wilman Paolo Chasi Vizquete

DOCENTE TUTOR

CC: 0502409725

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: Nasimba Chanataxi Nathalia Belen, con el título de Proyecto de Investigación: **“ANÁLISIS DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), Var. SÚPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm”**, 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, 19 de agosto del 2021

Lector 1

Ing M.Sc. Richard Alcides Molina Alcides
CC: 1205974627

Lector 2

Ing Ph.D. Carlos Javier Torres Miño
CC:0502329238

Lector 3

Ing M.Sc Guido Euclides Yauli Chicaiza
CC: 0501604409

AGRADECIMIENTO

En el presente trabajo quisiera agradecer a mis padres y hermanos por el apoyo que me han brindado en el transcurso de mi formación académica sin dejar que me rinda, a mi madre que ha sabido guiarme y me ayudado a ser una persona honesta y fuerte capaz de seguir para adelante a pesar de las dificultades que se presenten, a mi padre que con su apoyo he llegado hasta donde estoy, siempre dispuesto a darme consejo y cariño para seguir y nunca flaquear en el camino, ellos siendo mi fortaleza les agradezco desde el fondo de mi corazón tener padres tan maravillosos como ustedes, siendo un gran ejemplo de dedicación y trabajo duro para mí y mis hermanos.

A mis hermanos que me han apoyado hasta ahora en cada cosa compartiendo sus experiencias y su sabios consejos para que no me diera por vencida, siempre dispuestos apoyarme con cariño y amor como siempre nos han enseñado nuestros padres, demostrando siempre la unión entre hermanos.

Además agradezco a mi tutor Ing. M.Sc. Wilman Paolo Chasi Vizuite por guiarme y ayudarme en el transcurso de este proyecto de investigación, también por compartir sus conocimientos durante el transcurso de mi carrera.

Nathalia Nasimba

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi madre Luz María Chanataxi Caiza y a mi padre Hugo Nasimba Nasimba quienes con un gran esfuerzo me apoyaron durante mi formación académica hasta terminar mi carrera universitaria, siendo mis guías y pilares fundamentales en mi vida.

Le quiero dedicar de manera especial este trabajo a mi mamá que siempre se encuentra a mi lado, ella me ayudo a seguir adelante superando un grandes obstáculos con fortaleza y orgullo, espero que siempre se encuentre a mi lado y se sienta orgullosa de mi.

NATY

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITULO: ANÁLISIS DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), VARIEDAD SÚPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm.

AUTOR: Nasimba Chanataxi Nathalia Belen

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el piso altitudinal de 3800 msnm en la comunidad de cuturivi chico, provincia de Cotopaxi tuvo como objetivo identificar consorcios bacterianos y grupos funcionales asociados a la rizosfera del cultivo de la papa.

Para la presente investigación se utilizó una identificación bacteriana por secuenciación del gen 16S, para los grupos funcionales se utilizó la metodología de (Bernal, 2005) para la determinación de grupos mencionados por medios específicos:

Microbiota total se utiliza Agar Nutritiva, Bacterias fijadoras de nitrógeno se utiliza Watanabe

Bacterias Solubilizadores de fosforo se utiliza Agar Ramos Callao

Hongos se utiliza Rosa de Bengala

Actinomiceto se utilizó Agar Caseina

Bacterias celulolíticas se utiliza Agar Extracto de Suelo

Pseudomonas se utiliza B de king

Adicional para conocer el estado de composición del suelo se realizó un análisis físico-químico en el laboratorio del INIAP, de los datos obtenidos en el análisis metagenómico se identificaron tres familias representativas Enterobacteriaceae, Xanthomonadaceae y Rhodanobacteraceae de las cuales los géneros más representativos fueron Raoultella, rhodanobacter y las especies con mayor abundancia fueron Raoultella ornithinolytica, Raoultella terrígena. Los grupos funcionales con mayor representación fueron Bacterias solubilizadoras de fosforo, actinomicetos y pseudomonas tanto en Colonias*gr y ufc*gr respectivamente

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

TITLE: ANALYSIS OF BACTERIAL CONSORCIUM AND FUNCTIONAL GROUPS ASSOCIATED WITH THE POTATO (*Solanum tuberosum*) RHIZOSPHERE, SUPER CHOLA VARIETY IN THE ALTITUDINAL FLOOR OF 3800 masl.

AUTHOR: Nasimba Chanataxi Nathalia Belen

ABSTRACT

The present investigation was carried out in the altitudinal floor of 3800 meters above sea level in the community of Cuturivi Chico, province of Cotopaxi, with the objective of identifying bacterial consortia and functional groups associated to the rhizosphere of potato crop.

For the present investigation, bacterial identification by sequencing of the 16S gene was used; for the functional groups, the methodology of (Bernal, 2005) was used for the determination of the groups mentioned by specific means:

Total microbiota using Nutrient Agar, Nitrogen Fixing Bacteria using Watanabe.

Phosphorus solubilizing bacteria using Ramos Callao Agar.

Fungi using Rose Bengal Agar

Actinomycete, Casein Agar was used.

Cellulolytic Bacteria using Soil Extract Agar

Pseudomonas B de king was used.

In addition, to know the state of soil composition, a physical-chemical analysis was carried out in the INIAP laboratory. From the data obtained in the metagenomic analysis, three representative families Enterobacteriaceae, Xanthomonadaceae and Rhodanobacteraceae were identified, of which the most representative genera were Raoultella, Rhodanobacter and the species with the highest abundance were Raoultella ornithinolytica, Raoultella terrigena. The functional groups with the highest representation were phosphorus solubilizing bacteria, actinomycetes and pseudomonads in colonies*gr and cfu*gr respectively.

Contenido

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vi
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vii
AGRADECIMIENTO	viii
DEDICATORIA	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
1.1.1. Línea:.....	2
Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local.....	2
1.1.2. Sub líneas de investigación:	2
2. DESCRPCION DEL PROYECTO.....	3
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
4. JUSTIFICACIÓN	5
5. Objetivo general.....	7
5.1. Objetivos específicos	7
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	8
CAPITULO I.....	9
7. FUNDAMENTACION TEORICA TECNICA	9
7.1. Grupos funcionales	9
7.2. Microbiología del suelo	9
7.3. Hongos	9
7.4. Solubilizadores de fósforo	9
7.5. Bacterias celulolíticas	9
7.6. Actinomicetes	10

7.7.	Bacterias fijadoras de nitrógeno	11
7.8.	Captadores de fósforo	11
7.9.	Pseudomonas	11
7.10.	Interfaz suelo raíz.....	12
7.11.	Rizosfera	12
7.12.	Características de la rizosfera	13
7.13.	Qué son las bacterias?	13
7.14.	Beneficios de bacterias en la rizosfera.....	13
7.15.	Consortios microbianos	14
7.16.	Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal	14
7.17.	Origen de la papa (<i>Solanum tuberosum</i>).....	15
7.18.	Papa en el Ecuador.....	15
7.19.	Taxonomía de <i>Solanum Tuberosum</i>	16
8.	PREGUNTA CIENTÍFICA	16
	CAPITULO II.....	17
9.	METODOLOGIA	17
	Actividad 1.- Delimitación del área del estudio	17
	Para la delimitación del área de estudio, se busco un predio que cuente con las condiciones favorables al cultivo de papa, utilizando herramientas de ubicación geográfica (Google earth y Andy GPS) se procede al levantamiento geográfico con coordenadas y altitud exacta del piso altitudinal.....	17
	Actividad 2.- Muestreo de la rizosfera de la papa en el área de estudio.....	17
	Actividad 3.- Análisis genómico microbiológico	18
	Actividad 2.- Preparación de medios de cultivos específicos para cada grupo funcional a encontrar.....	19
	Actividad 3: Siembra e incubación en los medios de cultivos.....	21
	Actividad 4. Preparación de la muestra para recuento de UFC.	21
	Actividad 5. Preparación de disoluciones seriadas	21

Para el cumplimiento de esta actividad se utilizó la metodología de (Baez et al., 2019) donde resumimos los siguiente pasos : Siembra en cajas Petri y se procede hacer con conteo del número de colonias que debe ser multiplicado por el factor de diluciones para obtener las UFC por milímetro de nuestra original. 21

- Método de siembra por fragmento de raíz 22

Actividad 6. Determinación de la concentración UFC..... 22

CAPITULO III..... 23

10. ANALISIS Y RESULTADOS 23

- 10.1. Identificación de consorcios bacterianos 23
- 10.2. Determinación de grupos funcionales 29
- 10.3. Concentración de colonias *gr⁻¹ por grupo funcional en muestras de suelo y raíz 39

11. CONCLUSIONES 42

12. RECOMENDACIONES 42

- Se recomienda aplicar la investigación en los pisos altitudinales bajos de 3000 msnm, 2500 msnm y así tener una visión general en todos estos parámetros en toda la comunidad productiva de la papa..... 42

13. BIBLIOGRAFIA: 43

14. ANEXOS 46

- Anexo 13. Reposo en estufa para el crecimiento de bacterias y hongos. 68
- Anexo 14. Verificación de aparición de hongos y bacterias. 68

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cuadro de actividades por objetivo 8

Tabla 2. Taxonomía de la papa (*Solanum tuberosum*)..... 16

Tabla 3. Coordenadas de la localidad 17

Tabla 4. Tabla de familias con mayor representación en el árbol taxonómico con relación a los grupos funcionales..... 24

Tabla 5. Tabla de género con mayor representación con relación a los grupos funcionales 26

Tabla 6. Tabla de especies con mayor representación en el árbol taxonómico con relación con los grupos funcionales.....	28
Tabla 7. Concentración de colonias*gr-1 por grupo funcional en muestras de suelo y raíz	39
Tabla 8. Concentración de ufc*gr-1 por grupo funcional en muestras de suelo y raíz...	41

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa	16
Figura 2. Mapa de la localidad muestreada.....	17
Figura 3. Proceso de disoluciones seriadas	22
Figura 4. Árbol de taxonomía del NCBI para las bacterias identificadas por familia del piso altitudinal de 3800 msnm	23
Figura 5. Árbol de taxonomía del NCBI para las bacterias identificadas por género del piso altitudinal de 3800 msnm	25
Figura 6. Árbol de taxonomía del NCBI para las bacterias identificadas por especie del piso altitudinal de 3800 msnm	27

INDICE DE GRAFICOS

Grafico 1. Concentración de colonias*gr-1 de Microbiota total del suelo	29
Grafico 2. Concentración de UFC*gr-1 de Microbiota total del suelo.....	29
Grafico 3. Concentración de colonias*gr-1 de Población total de hongos.	30
Grafico 4. Concentración de ufc *gr-1 de Población total de hongo.....	31
Grafico 5. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional de Solubilizadoras de fosforo	32
Grafico 6. Concentración de UFC*gr-1 en el grupo funcional bacterias solubilizadoras de fosforo	32
Grafico 7. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional Bacterias celulolíticas	33
Grafico 8. Concentración de ufc*gr-1 de grupo funcional bacterias celulolíticas.....	34
Grafico 9. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional Actinomicetos	35
Grafico 10. Concentración de UFC* gr-1 del grupo funcional Actinomicetos.....	35

Grafico 11. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional Bacterias Fijadoras de Nitrógeno.....	36
Grafico 12. Concentración de ufc*gr-1 en el grupo funcional de bacterias fijadoras de nitrógeno	37
Grafico 13. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional Pseudomonas.....	38
Grafico 14. Concentración de ufc*gr-1 del grupo funcional pseudomonas.....	38
Grafico 15. Concentración de colonias* gr-1 en siete grupos funcionales.	40
Grafico 16. Concentración de ufc* gr-1 en siete grupos funcionales.....	41

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

“ANÁLISIS DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), Var. SÚPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm”

Fecha de inicio:

Abril del 2021.

Fecha de finalización:

Agosto del 2021.

Lugar de ejecución:

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

Facultad que auspicia:

Facultad De Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

Carrera que auspicia:

Ingeniería Agronómica.

Proyecto de investigación vinculado:

Proyecto “ANÁLISIS DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), VARIEDAD SÚPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 MSNM”

Equipo de Trabajo:

Responsable del Proyecto Ing. Mg. Wilman Paolo Chasi Vizueté

Tutor: Ing. Mg. Paolo Chasi

Investigador: Nathalia Nasimba

Lector 1: Ing. Mg. Molina Richad

Lector 2: Ing. Phd. Torres Carlos

Lector 3: Ing M.Sc.Guido Yauli

Coordinador del Proyecto

Nombre: Nathalia Belen Nasimba Chanataxi

Teléfonos: 0996674161

Correo electrónico: nathalia.nasimba7694@utc.edu.ec

Área de Conocimiento:

1.1.Línea de investigación:

1.1.1. Línea:

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local.

1.1.2. Sub líneas de investigación:

Caracterización de la biodiversidad

2. DESCRPCION DEL PROYECTO

El presente proyecto consistió en la identificación de consorcios bacterianos y la determinación grupos funcionales presentes en la rizosfera de la papa, los grupos funcionales encontrados fueron bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias Solubilizadores de fosforo, hongos, actinomiceto, bacterias celulíticas, pseudomonas, así como también se determinó la Microbiota total en los cuales se realizó el conteo de colonias y UFC por cada uno de los grupos anteriormente descritos.

Las muestras recolectadas fueron tomadas dentro de la Provincia de Cotopaxi, localidad de Cuturívi Chico a una altitud de 3800 msnm, donde dicho sector tiene como principal rubro económico el cultivo de la papa, donde se recolecto dos muestras, una de raíz y una de suelo de la variedad super chola para los grupos funcionales y adicionalmente dos muestras de la rizosfera para los análisis meta-genómicos y composicionales de suelo; estos análisis se los realizo en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Tecnica de Cotopaxi, en laboratorio de Biotecnología del CIBE y Departamento de Suelos, Plantas y Aguas (INIAP) respectivamente. La identificación bacteriana se la realizó a través del método de secuenciación en nanoporos con dispositivo MinION, con amplificación de los genes 16s de la muestra y preparación de librerías de ADN, para secuenciar utilizando el kit de código de barras para posterior análisis de las lecturas resultantes en el flujo bioinformático online 16S en EPI2ME (una plataforma de análisis basada en la nube que proporciona flujos de trabajo de análisis en tiempo real)Para el análisis de los diferentes grupos funcionales se tomó la referencia metodológica de (Bernal, 2005) donde se utilizó para: Microbiota total se utiliza Agar Nutritiva, Bacterias fijadoras de nitrógeno se utiliza Watanabe, Bacterias Solubilizadores de fosforo se utiliza Agar Ramos Callao, Hongos se utiliza Rosa de Bengala, Actinomiceto se utilizó Agar Caseina, Bacterias celulolíticas se utiliza Agar Extracto de Suelo y Pseudomonas se utiliza B de king

De los grupos funcionales antes mencionados se realizó cinco repeticiones en suelo y raíz más un testigo blanco donde obtuvimos las UFC* gr⁻¹ de cada uno.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

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

El mayor problema es la erosión del suelo, con el consiguiente desgaste físico, pérdida de la base nutrimental y húmica, como de la actividad microbiana, comprometiendo su fertilidad y productividad en detrimento de la seguridad y soberanía agroalimentaria de la sociedad ecuatoriana.(Ferrera & Alarcón, 2001) .

La papa (*Solanum tuberosum* .) es uno de los cultivos alimenticios más importantes a nivel mundial, ocupa el cuarto lugar en importancia como alimento, después del maíz, el trigo y el arroz. En el 2015, la producción de papa del Ecuador fue de 345,900 t en una superficie de 49.371 ha. El área sembrada en la Sierra ecuatoriana fue de 98.56%, mientras que en la Costa y en la región Oriental fue de 1.11% y el 0.33% respectivamente. Carchi, fue la provincia de mayor producción, con un aporte del 28% del total nacional, seguida de Chimborazo (23%), Cotopaxi (18%), Pichincha (12%) y Tungurahua (10%). Las provincias restantes de la Sierra reportaron producciones bastante más bajas. El rendimiento promedio del cultivo a nivel nacional fue de 7.3 t/ha, que esconde una gran variabilidad entre provincias. (Ferrera & Alarcón, 2001) .

La Provincia de Cotopaxi con un aporte del 18% del total nacional, es considerada como una potencia agrícola de la sierra centro del Ecuador, por lo que la agricultura es una de las mayores actividades que sustentan el desarrollo económico de la misma es por esto que el suelo es uno de los componentes del medio fuertemente afectado cuando no existe un manejo adecuado de los recursos naturales. Son muchas las consecuencias de un mal manejo que repercuten directamente en el suelo, entre éstas destacan la erosión, compactación, salinidad, disminución de fertilidad, etc. Todas estas pueden ser englobadas en una sola: la degradación del suelo. (Naturales, 2017) .

4. JUSTIFICACIÓN

La papa es uno de los rubros importantes de los sistemas de producción de la Sierra ecuatoriana, constituye una fuente importante de alimentación e ingresos para la familia campesina. El cultivo de papa se realiza en alturas comprendidas entre los 2700 a 3400 msnm, a lo largo del callejón interandino; sin embargo, los mejores rendimientos se presentan en zonas ubicadas entre los 2900 y los 3300 msnm, donde las temperaturas fluctúan entre 9 y 11°C (Andrade et al., 2002; Devaux et al., 2010; (Bolaños A, 2015).

La vegetación es uno de los factores más importante que incide en la dinámica de las comunidades microbianas del suelo y que actúa como regulador de la microflora edáfica (Remacle y De Leval, 1975). El papel fundamental de la comunidad macrofítica se debe al aporte de materia orgánica mediante la deposición de las hojas y de otros restos vegetales, también por el lavado de las hojas a través del agua de lluvia, así como por la liberación radical de sustratos carbonados (Franklin y Waring, 1980).

Pozuelo,(1991), señala que el medio que forman las raíces para la comunidad microbiana es muy inestable. Las raíces cuando crecen cambian y evolucionan creando muchos tipos de hábitats; por ello determinan la densidad y diversidad de la comunidad bacteriana rizosférica junto con las condiciones físico-químicas del medio edáfico.

El área de las micorrizas se encuentra en una situación de avance de las investigaciones, tratando de obtener cepas eficientes en el biocontrol contra patógenos y como biofertilizantes. Es verdad que en el mercado existe una gama amplia de productos a base de micorrizas importadas del exterior y de otros microorganismos con una versatilidad increíble y milagrosa a la vez. Lamentablemente un buen número de estos productos comerciales no funcionan bajo condiciones propias ejemplo el clima y/o el suelo del Ecuador, creando la necesidad de llevar a cabo proyectos nacionales de investigación específicos en cada región (Bernal Gómez, 2006).

El conocimiento que tenemos hoy en día sobre la estructura de las comunidades microbianas que integran los agroecosistemas, a nivel de composición, distribución y función, es muy escaso, pero suficiente como para poner de manifiesto su importancia. Así pues, la estructura de la comunidad microbiana de un ecosistema se puede considerar el indicador biológico más sensible del estado del mismo, puesto que reacciona de manera

rápida y reproducible en respuesta a los impactos antropogénicos realizados sobre él. (Nuria Bonilla, 2012).

Por todo lo expuesto anteriormente, y contestando a las interrogantes antes planteadas, en los diferentes pisos altitudinales, se identificarán los consorcios bacterianos y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*).

5. Objetivo general

Analizar los consorcios bacterianos y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*).

5.1. Objetivos específicos

- Identificar los consorcios bacterianos asociados a la rizosfera de la papa.
- Determinar los grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa.

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

Tabla 1. Cuadro de actividades por objetivo

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

Fuente: Cruz, Chiquimba, Nasimba, Ortiz, 2021

CAPITULO I

7. FUNDAMENTACION TEORICA TECNICA

7.1. Grupos funcionales

Se define como grupos funcionales al conjunto de átomos presentes en a cadena de carbono de un compuesto y que por sus características de reactividad define el comportamiento químico de la molécula.(Orijel et al., 2008)

7.2. Microbiología del suelo

Los microorganismos del suelo desempeña un rol vital en diferentes procesos del suelo, muchos de los microorganismos que se encuentran en el suelo se diferencias y cumplen funciones específicas.(Bernal Gomez, 2006)

7.3. Hongos

Siendo un grupo diverso los hongos no contienen clorofila y la mayoría de las especies forman una pared celular rígida constituida por polisacáridos. Son organismos quimiorganotrofos que viven en ambientes bastantes diversos. Algunos son acuáticos, principalmente de aguas dulces, aunque se conocen unas pocas especies de hongos marinos. La mayoría de los hongos tienen hábitats terrestres, viven en el suelo o sobre materia vegetal muerta y juegan un papel primordial en la mineralización del carbono orgánico. (Amils, 2011)

7.4.Solubilizadores de fósforo

Estos agentes se encargan de pasar el fósforo orgánico a formas inorgánicas para lograr mayor asimilación por las plantas. Este proceso involucra la transformación de fosfatos insolubles a formas disponibles para las plantas. Los microorganismos que participan en la solubilización ocupan el 10 % de la población del suelo, se encuentran en la rizósfera y algunas especies son:

Pseudomonas putida

Bacillus subtilis

Penicillium bilaji

Aspergillus niger; además de otras especies de los géneros *Mycobacterium*, *Thiobacillus* y *Micrococcus*.(Virgen, 2009)

7.5. Bacterias celulolíticas

Todos los organismos capaces de la degradación de la celulosa cristalina secretan un conglomerado de células con diferentes niveles de especificidad y modo de acción, que

actúan sinérgicamente para hidrolizar a la celulosa, dicho grupo se ha venido nominando sistema o complejo celulasa, esta nominación es confusa ya que sólo en algunas bacterias anaerobias las enzimas celulíticas se juntan en complejos multienzimáticos extracelulares (Loaiza, 2017).

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

Entre las bacterias más diversas y conocidas son las aerobias:

- *Cytophaga sp.*
- *Vibrio sp.*
- *Bacillus sp.*
- *Cellulomonas sp.*
- *Pseudomonas sp.*
- *Thermobifida sp.*

(Loaiza, 2017)

La acción enzimática es el factor más importante en el proceso de degradación de celulosa donde los microorganismos tienen la capacidad de sintetizar exoenzimas (celulasas), que van a actuar sobre la celulosa con lo cual la hidrolizarán en productos que puedan ser usados como fuente de energía y carbono (Maria & Bohorquez, 2007),

7.6. Actinomicetes

Los actinomicetos forman un grupo ubicuo y heterogéneo de microorganismos gram positivos, representando el 20 y 60 % de la población microbiana total del suelo.

Se los puede encontrar en ambientes acuáticos tanto dulces como marinos, siendo considerados microorganismos saprófitos (organismos cuyas células están dotadas de pared) cumpliendo un importante papel en la descomposición de la materia orgánica y el ciclo del carbono con la producción de enzimas hidrolíticas y ligninolíticas.

La actividad metabólica de los actinomicetos, frecuentemente está acompañada por la producción de metabolitos secundarios (MS) de gran diversidad química, que desempeñan un papel primordial en el mantenimiento, señalización y colonización de su hábitat (Investigaci, n.d.)

7.7. Bacterias fijadoras de nitrógeno

La fijación biológica de nitrógeno por parte de la bacteria *Rhizobium* es el área dentro de la microbiología de suelos con de mayor investigación en el Ecuador, por la importancia de las leguminosas en los sistemas agroecológicos.

Las bacterias fijadoras de nitrógeno se encuentran en las leguminosas las cuales poseen proteínas que son de alimento para el ser humano y animal. Las bacterias pueden aprovechar directamente el nitrógeno del aire, originando los compuestos absorbibles. Dicha fijación de nitrógeno se realiza en los nódulos radiculares, gracias a la catálisis del complejo enzimático nitrogenasa. (Bernal Gomez, 2006)

7.8. Captadores de fósforo

Las micorrizas entran en este grupo de microorganismos, las cuales penetran o se unen a las raíces para que éstas les proporcionen los alimentos necesarios y con ello cumplan su ciclo de vida. El beneficio que reciben las micorrizas son exudados de la raíz ricos en carbohidratos, que las micorrizas utilizan como fuente de energía. Las micorrizas favorecen el sistema radical, ayudando a la planta a una mejor absorción de agua y nutrientes. (Virgen, 2009)

7.9. Pseudomonas

Los microorganismos que pertenecen a este grupo funcional, son bacterias diversas gram positivas en forma de varillas con movilidad frecuente. Las pseudomonas se encuentran en las plantas y suelos, siendo factores clave en el medio ambiente por que facilitan procesos claves como son el ciclo del carbono, ciclo del nitrógeno, la biodegradación y descomposición (Christopher Reuter, 2019).

7.10. Interfaz suelo raíz

El agua y los nutrientes son absorbidos por las raíces de las plantas debido a que éstas penetran en un gran volumen de suelo. Las raicillas más pequeñas que se van formando tienen una epidermis delgada por la que el agua penetra con facilidad, circulando a través de las células de cada raíz hasta llegar al otro tipo de vasos llamados xilema. Esta vía de circulación está formada por células muertas que tienen más o menos forma de tubo, de manera que muchas células unidas forman largas tuberías por las que el agua asciende de la raíz, a través del tallo, hasta las células de las hojas, en donde es requerida en la mayor cantidad.

Las raíces de las plantas son órganos con potencialidades extraordinarias; a pesar de ello, han sido menos estudiadas que las hojas, debido quizá a que presentan mayores dificultades para su estudio por su crecimiento y funcionamiento subterráneo. Las raíces crecen y se ramifican continuamente durante las etapas activas de las plantas, de manera que se van formando nuevas raíces hacia las capas del suelo en las que existe más agua y también nutrientes que puedan ser absorbidos. Se ha visto que la forma y la disposición de las raíces de las plantas varían de acuerdo con las especies y el ambiente en donde crecen. Algunos tipos de plantas concentran sus raíces en la superficie, otras en zonas intermedias o profundas del suelo y otras más exploran simultáneamente varias capas; de este modo se reduce la competencia entre plantas diferentes, ya que pueden tener las raíces en diversos niveles. (Sepúlveda-robles, 2015)

7.11. Rizosfera

En la rizósfera se pueden encontrar gran cantidad de microorganismos, entre ellos hongos, bacterias, actinomicetos, protozoarios y algas; estos microorganismos se encuentran estableciendo una asociación con las raíces, la cual puede ser de carácter benéfico o nocivo. En el primer caso, algunos ejemplos son las micorrizas, bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias promotoras del crecimiento vegetal y agentes de control biológico; en el caso de los nocivos, se destacan todos aquellos microorganismos fitopatógenos. (Virgen, 2009)

7.12. Características de la rizosfera

La rizosfera siendo una zona rica en microorganismos, radica en gran medida por el hecho de que éstos encuentran aquí un ambiente muy favorable para su desarrollo. En la rizosfera pueden desarrollarse tanto microorganismos benéficos como Fito patógenos.

En este sentido, se han realizados muchas investigaciones en los últimos años para el entendimiento de los microorganismos de interés agrícola, es decir, todos aquellos que sean capaces de promover el crecimiento de las plantas o en su defecto tengan un efecto de protección ante organismos Fito patógenos. Relacionado a la actividad microbiana, estimaron que entre un 2-5 % de las bacterias presentes en la rizosfera ejercen un efecto benéfico sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas. (Virgen, 2009)

7.13. Qué son las bacterias?

Las bacterias son organismos unicelulares microscópicos, sin núcleo ni clorofila, que pueden presentarse desnudas o con una cápsula, aisladas o en grupos y que pueden tener cilios o flagelos.

Las bacterias, como el resto de los seres vivos, necesitan una fuente de carbono para poder sobrevivir. El origen de esta fuente de carbono sirve como criterio de clasificación para las bacterias. Además, se necesita una fuente de energía que sirva para poder construir sus propias moléculas; el tipo de fuente de energía utilizada también sirve como criterio de clasificación. (*No Title*, n.d.)

7.14. Beneficios de bacterias en la rizosfera

La abundancia de bacterias en la rizósfera en comparación con otros microorganismos se puede deber a su rápido crecimiento y la habilidad que presentan de utilizar un amplio rango de sustratos como fuentes de carbono o nitrógeno. La cantidad de bacterias que se van a encontrar depende de muchos factores como son: la temporada, el tipo de suelo, la vegetación, el contenido de humedad, el tipo de labranza y fertilización. Si hablamos del hábitat específico de las bacterias, algunas se pueden encontrar adheridas a la superficie de las partículas de suelo como agregados o interactuando específicamente con las raíces de las plantas; sin embargo, la concentración de bacterias por gramo de suelo que se halla alrededor de las raíces de

las plantas en la llamada rizósfera es mucho mayor que en el resto del suelo. (Calvo Vélez et al., 2008)

7.15. Consorcios microbianos

Un Consorcio Microbiano es una asociación natural de dos o más poblaciones microbianas, de diferentes especies, que actúan conjuntamente como una comunidad en un sistema complejo, donde todos se benefician de las actividades de los demás. La asociación refleja estilos de vida sinérgicos o sintróficos (que significa “comiendo juntos”) en el que el crecimiento y el flujo cíclico de nutrientes se conduce más efectiva y eficientemente que en poblaciones individuales.

Funcionalmente, un consorcio microbiano supera la suma de sus partes; sus miembros mantienen la compatibilidad metabólica y ecológica siempre y cuando las transformaciones ambientales que se generan permitan que ellos coexistan cercanamente. (Ochoa Carreño & Montoya Restrepo, 2010)

7.16. Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal

El estudio y entendimiento de las PGPR han sido temas de gran importancia en muchas investigaciones a nivel mundial.

Las bacterias asociadas con la rizosfera de las plantas son capaces de generar varios mecanismos por los cuales afectan positivamente su crecimiento y desarrollo de esta capacidad no está estudiada completamente, se conocen mecanismos directos e indirectos para la promoción del crecimiento vegetal.

Los mecanismos directos se relacionan en:

- la producción de fitohormonas de tipo auxinas y giberelinas o la regulación de la producción de hormonas por parte de la planta. Así mismo pueden afectar la disponibilidad de nutrientes por la intervención directa en los ciclos biogeoquímicos. Es el caso de la fijación biológica de nitrógeno y la solubilización de nutrientes tan importantes como el fósforo.

Indirectamente las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) pueden contribuir mediante la inducción de la resistencia sistémica a fitopatógenos, el control biológico de enfermedades, la producción de antibióticos y de sideróforos (Camelo R. et al., 2011).

7.17. Origen de la papa (*Solanum tuberosum*)

Se reporta que *Solanum tuberosum* se domesticó en Sudamérica, específicamente en Bolivia, entre los lagos Titicaca y Poopó hace unos 10,000 a 7,000 años, aunque los primeros vestigios se encontraron en el cañón de Chilca, al sur de Lima en Perú que datan de una antigüedad de hace 10,500 años. Y aunque existe controversia y opiniones muy diversas en cuanto al origen de la papa, sin duda se estima que el altiplano peruano-boliviano es el centro de origen de este importante cultivo. (Lim, 2016)

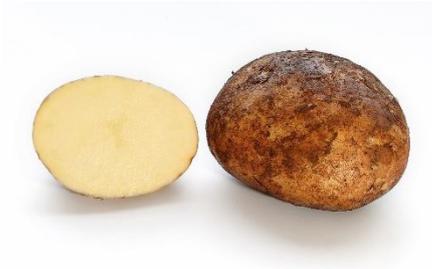
7.18. Papa en el Ecuador

La papa ha sido por milenios un cultivo de alta prioridad en el Ecuador, es uno de los principales cultivos con 421 mil toneladas de producción al año. La producción está orientada principalmente para consumo interno, aproximadamente el 81% se pág. -11- Comercializa para consumo en fresco y las industrias utilizan el resto para procesamiento.

La producción de papa en Ecuador se distribuye en tres zonas geográficas: norte, centro y sur. Las diferencias agroecológicas están determinadas no por la latitud, sino por las relaciones entre clima, fisiografía y altura. En general, el cultivo de la papa en el país se desarrolla en terrenos irregulares, en laderas hasta con más de 45% de pendiente y en un rango de altitud de 2.400 a 3.800 m.s.n.m. en los pisos interandinos y subandinos.

Se trata de una planta de clima templado-frío El frío excesivo perjudica especialmente a la patata, ya que los tubérculos quedan pequeños y sin desarrollar. Si la temperatura es demasiado elevada afecta a la formación de los tubérculos y favorece el desarrollo de plagas y enfermedades. (Chicaiza & Cuy, 2018).

7.19. Taxonomía de *Solanum Tuberosum*
Figura1. papa



*Tabla 2. Taxonomía de la papa (*Solanum tuberosum*)*

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

8. PREGUNTA CIENIFICA

Mediante la secuenciación genómica y la utilización de medios específicos para el cultivo de bacterias se puede identificar y determinar consorcios bacterianos y grupos funcionales asociados a la rizosfera del cultivo de la papa?

CAPITULO II

9. METODOLOGIA

La investigación realizada tiene una metodología experimental con un método cuali y cuantitativo con instrumentos de observación directa y revisión bibliográfica que fueron utilizados en el desarrollo de la misma

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

Actividad 1.- Delimitación del área del estudio.

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

Figura 2. Mapa de la localidad muestreada

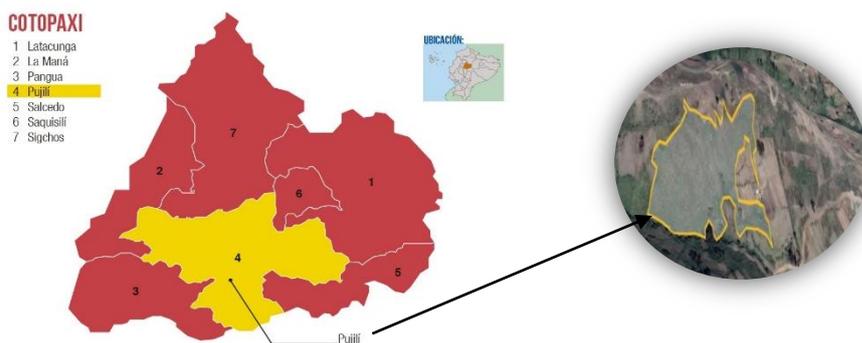


Tabla 3. Coordenadas de la localidad

Latitud	Longitud	Altitud
-1,010050	-78.756025	3800 msnm

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

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

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

2.1. Empaquetado y etiquetado de muestras.

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

Actividad 3.- Análisis genómico microbiológico

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

La identificación bacteriana se la realizó a través del método de secuenciación en nanoporos con dispositivo MinION, con amplificación de los genes 16s de la muestra y preparación de librerías de ADN, para secuenciar utilizando el kit de código de barras para posterior análisis de las lecturas resultantes en el flujo bioinformático online 16S en EPI2ME (una plataforma de análisis basada en la nube que proporciona flujos de trabajo de análisis en tiempo real)

Actividad 4. Agrupación taxonómica de consorcios microbianos.

Para la estructuración de árboles taxonómicos se analizó los datos resultante y se utilizó el flujo bioinformática online 16s en EP12ME.

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

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

Se realizó una revisión bibliográfica de las diferentes metodologías para el aislamiento microbiológico y se escogió la metodología de (Bernal, 2005). Donde indica diferentes medios de cultivos específicos para cada grupo funcional.

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

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

Dispensar a los medios:

*** Medio agar nutritivo (microbiota total).**

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

*** Agar extracto de suelo: (bacterias celulíticas).**

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

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

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

*** Rosa de bengala: (hongos)**

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

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

*** Watanabe: (fijadores de N)**

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

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

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

*** Caseína agar: (actinomicetos)**

En un recipiente con tapa se coloca 950 ml de agua destilada, se colocó 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 el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión (Anexo 1).

*** Ramos Callao: (solubilizadores de fósforo).**

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

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

Para el cumplimiento de esta actividad utilizaremos la metodología de (Baez et al., 2019) donde resumimos los siguientes pasos a seguir.

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

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

En la misma metodología para siembra y incubación (Baez et al., 2019) para recuento se detalla

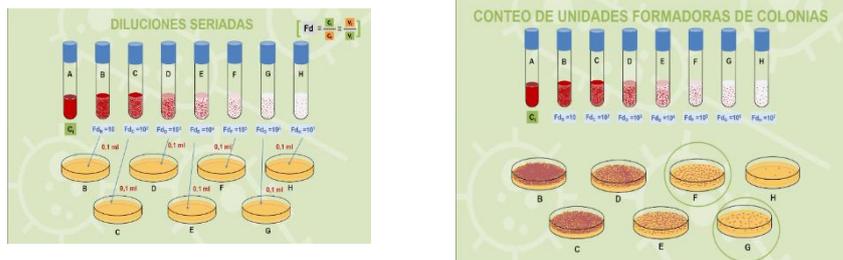
Se tomó las tres submuestra de 1 kg para las muestras solidas o 1 ml con micropipeta para muestras liquidas, se colocaron las sub-muestras en los tubos de ensayo de 15 ml y se adicono a cada tubo de 9 ml de agua destilada para agitarlo en vortex hasta que la muestre se disperse completamente. Se obtuvo una suspensión madre o disolución 10^{-1} .

Actividad 5. Preparación de disoluciones seriadas

Para el cumplimiento de esta actividad se utilizó la metodología de (Baez et al., 2019) donde resumimos los siguiente pasos : Siembra en cajas Petri y se procede hacer con conteo del número de colonias que debe ser multiplicado por el factor de diluciones para obtener las UFC por milímetro de nuestra original.

Se tomó 1 ml de la suspensión madre y se colocó en un tubo de ensayo con agua esterilizada, para agitarlo en el vortex vigorosamente el tubo hasta que la muestra se disperse completamente y a partir de esa disolución se repitió el mismo proceso anteriormente mencionado cuantas veces fueron necesarias. Se marcaron los tubos de ensayo para su identificación con el número de disolución que sea. (Baez et al., 2019)

Figura 3. Proceso de diluciones seriadas



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

➤ **Método de siembra por fragmento de raíz**

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

Actividad 6. Determinación de la concentración UFC

Para esta actividad utilizamos la metodología de (Baez et al., 2019) donde sintetizamos los siguientes pasos

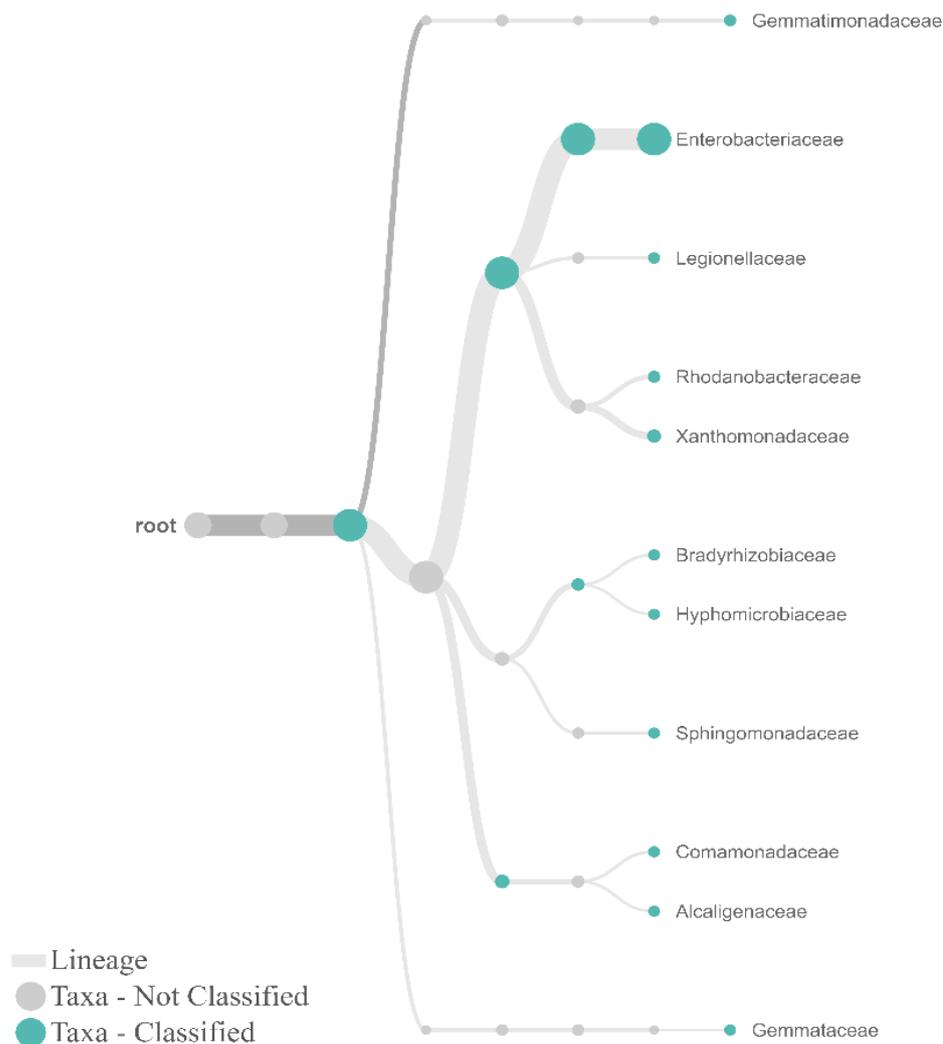
- 1) Se las cajas Petri con medio de cultivo PDA con el nombre de la muestra,
- 2) Nombra de la muestra
- 3) Fecha
- 4) Número de dilución siguiente a la del tubo que es utilizado para sembrar.
- 5) Tener 10 repeticiones (cajas inoculadas) por grupo funcional por dilución y por siembra de raíz, es decir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

CAPITULO III

10. ANALISIS Y RESULTADOS

10.1. Identificación de consorcios bacterianos

Figura 4. Árbol de taxonomía para las bacterias identificadas por familia del piso altitudinal de 3800 msnm



Fuente: (CIBE, 2021), **Elaborado por:** (Nasimba, 2021)

Como se observa en la (figura 4) de las 187,794 lecturas analizadas con un rendimiento total de 296,2 Mbases, con una longitud de secuencia promedio de 1,577, con una puntuación de calidad promedio de 13,26 se muestra el árbol taxonómico por familias para las bacterias identificadas asociadas a la rizosfera de la papa, encontramos 11 familias, entre la más representativa tenemos la Enterobacteriaceae. Seguiendola la familia Xanthomonadaceae y Rhodanobacteraceae.

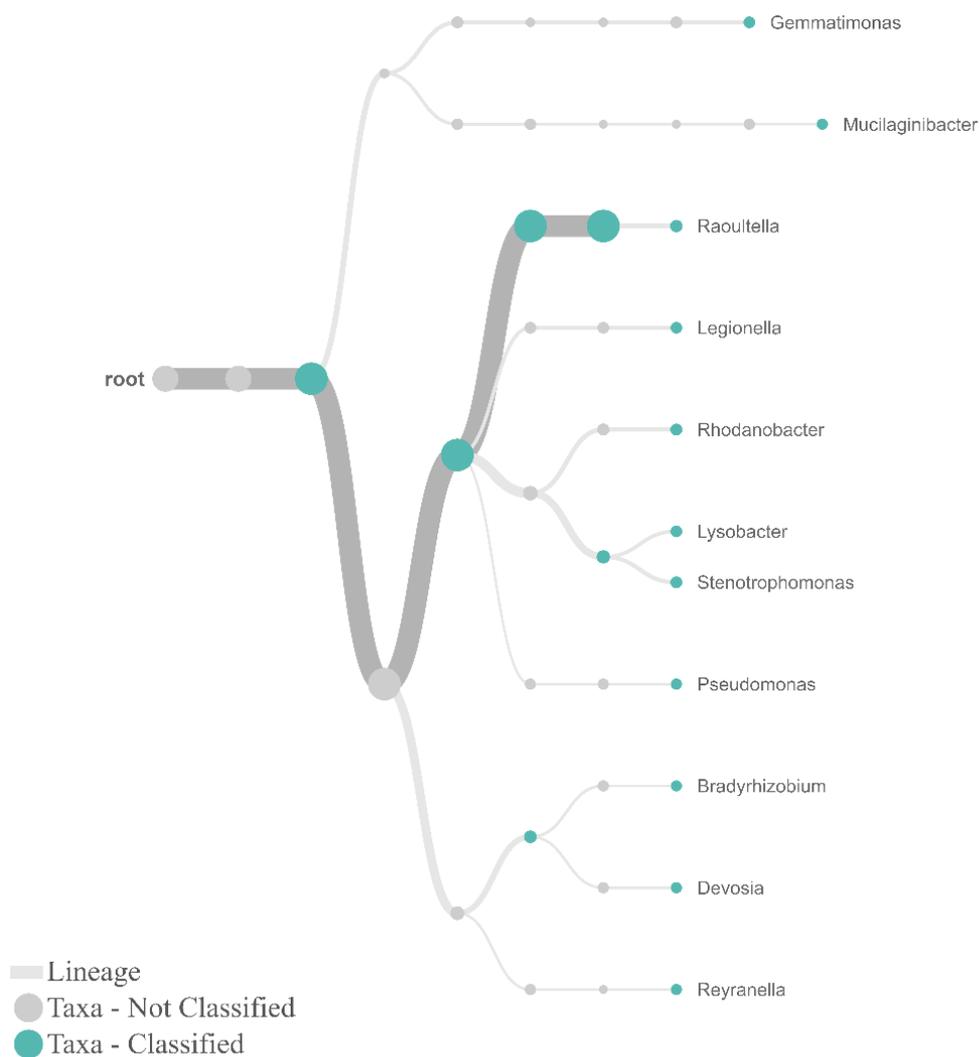
Tabla 4. Tabla de familias con mayor representación en el árbol taxonómico con relación a los grupos funcionales.

Familia	Lecturas acumulativas	GRUPO FUNCIONAL
Enterobacteriaceae	75,596	Bacterias solubilizadoras de fosforo
Xanthomonadaceae	7,042	Fijadoras de nitrógeno
Rhodanobacteraceae	3,628	Fijadoras de nitrógeno
Gemmatimonadaceae	2,921	bacterias celulolíticas
Legionellaceae	2,11	población total de bacterias
Comamonadaceae	1,667	Pseudomonas
Bradyrhizobiaceae	1,444	fijadoras de nitrógeno
Sphingomonadaceae	1,256	Fijadoras de nitrógeno
Alcaligenaceae	1,242	Fijadoras de nitrógeno
Gemmataceae	1,171	poblacion total de bacterias

Fuente: (CIBE, 2021), **Elaborado por:** (Nasimba, 2021)

Como se muestra en la (tabla 3) las familias Enterobacteriaceae, Xanthomonadaceae y Rhodanobacteraceae son de mayor prevalencia con lecturas acumulativas de 75,596, 7,042 y 3,628 respectivamente: en relación a los grupos funcionales obtenidos de la muestra podemos decir que la familia enterobacteriaceae pertenecen al grupo funcional bacterias solubilizadoras de fosforo seguido de la familia xanthomonadaceae y rhodanobacteraceae son parte del grupo funcional fijadoras de nitrogeno. Mismas que según (Lorena et al., 2012) describe que estas bacterias se caracterizan por ser bacterias solubilizadoras de fosforo, fijadoras de nitrógeno, la presencia de estas tres familias con sus características funcionales podrían incidir por un alto contenido de fosforo y y un contenido medio de nitrogeno obtenido en el análisis de suelo con 52 ppm de P y 48 ppm de N respectivamente (anexo 10).

Figura 5.Árbol de taxonomía del NCBI para las bacterias identificadas por género del piso altitudinal de 3800 msnm



Fuente: (CIBE, 2021)

Como se observa en la (ilustración 5) de las 187,794 lecturas analizadas con un rendimiento total de 296,2 Mbases, con una longitud de secuencia promedio de 1,577, con una puntuación de calidad promedio de 13,26 se muestra el árbol taxonómico por familias para las bacterias identificadas asociadas a la rizosfera de la papa, encontramos 10 géneros, entre la más representativa tenemos Raoultella seguida de Rhodanobacter, como principales géneros en relación a lecturas acumulativas.

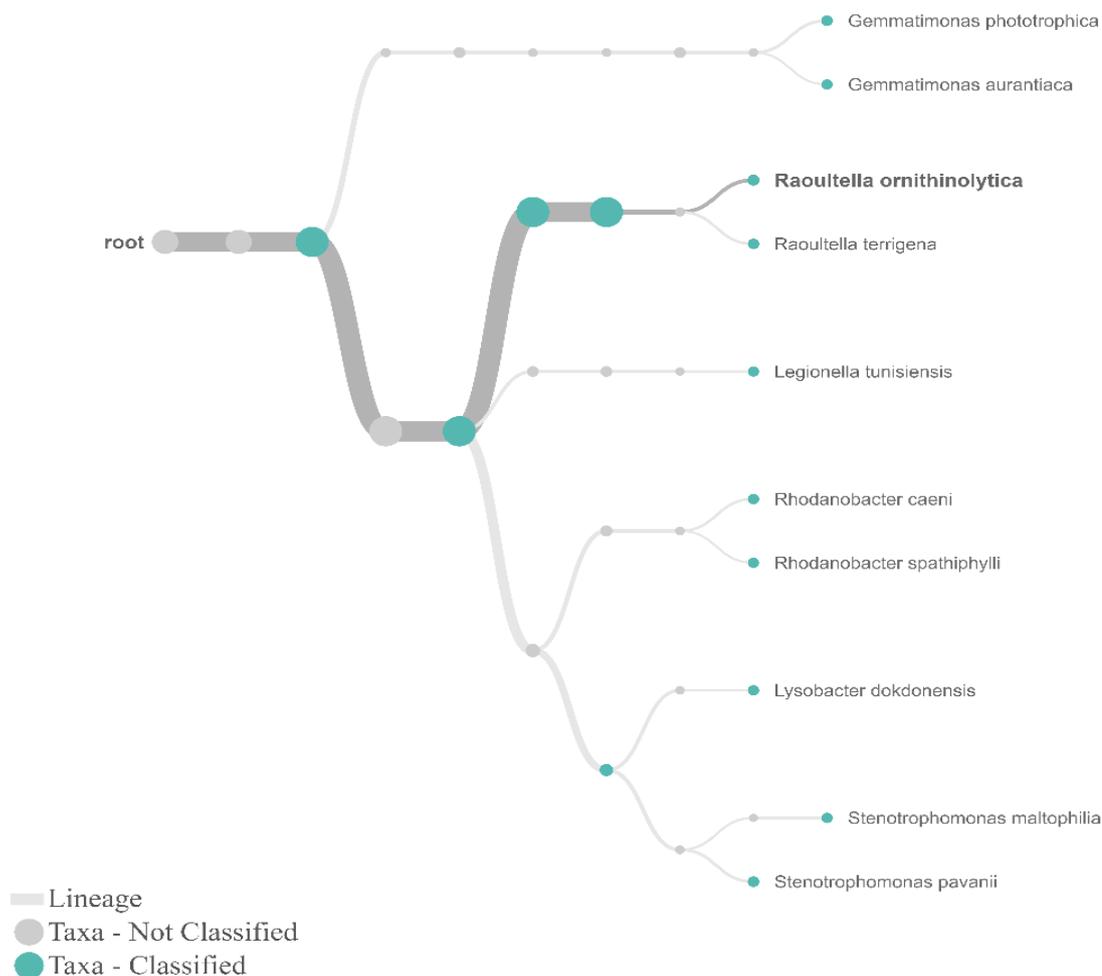
Tabla 5. Tabla de género con mayor representación con relación a los grupos funcionales

Genero	Lecturas comulativos	GRUPO FUNCIONAL
Raoultella	4,468	Bac.solubilizadoras de fosforo
Rhodanobacter	3,146	fijadoras de nitrógeno
Stenotrophomonas	3,014	Pseudomonas
Gemmatimonas	2,449	bacterias celulolíticas
Lysobacter	2,409	fijadoras de nitrógeno
Legionella	2,047	población total de bacterias
Bradyrhizobium	962	fijadoras de nitrógeno
Devosia	894	fijadoras de nitrógeno
Reyranella	687	población total de bacterias
Mucilaginibacter	677	población total de bacterias

Fuente: (CIBE, 2021), **Elaborado por:** (Nasimba, 2021)

Como se muestra en la (tabla 4) el género raoultella, rhodanobacter y stenotrophomonas son de mayor prevalencia con lecturas acumulativas de 4,468 , 3,146 y 3,014 respectivamente: en relación a los grupos funcionales obtenidos de la muestra podemos decir que el género raoultella pertenecen al grupo funcional bacterias solubilizadoras de fosforo seguido del genero rhodanobacter y stenotrophomonas son parte del grupo funcional fijadoras de nitrógeno y pseudomonas, esto coincide con lo planteado por (Montalvillo, 2002) donde el género raoultella y rhodanobacter pertenecen al grupo funcional anteriormente mencionado, la presencia de estos generos con sus características funcionales podrían incidir en el alto contenido de fosforo obtenido en el analisis de suelo con 52 ppm de P (anexo 10).

Figura 6.Árbol de taxonomía del NCBI para las bacterias identificadas por especie del piso altitudinal de 3800 msnm



Fuente: (CIBE, 2021)

Como se muestra en la (figura 6) de las 187,794 lecturas analizadas con un rendimiento total de 296,2 Mbases, con una longitud de secuencia promedio de 1,577, con una puntuación de calidad promedio de 13,26 se muestra el árbol taxonómico por familias para las bacterias identificadas asociadas a la rizosfera de la papa, encontramos 10 especies, la más representativa tenemos a la especie *Raoultella ornithinolytica* como principal especie en relación a lecturas acumulativas .

Tabla 6. Tabla de especies con mayor representación en el árbol taxonómico con relación con los grupos funcionales.

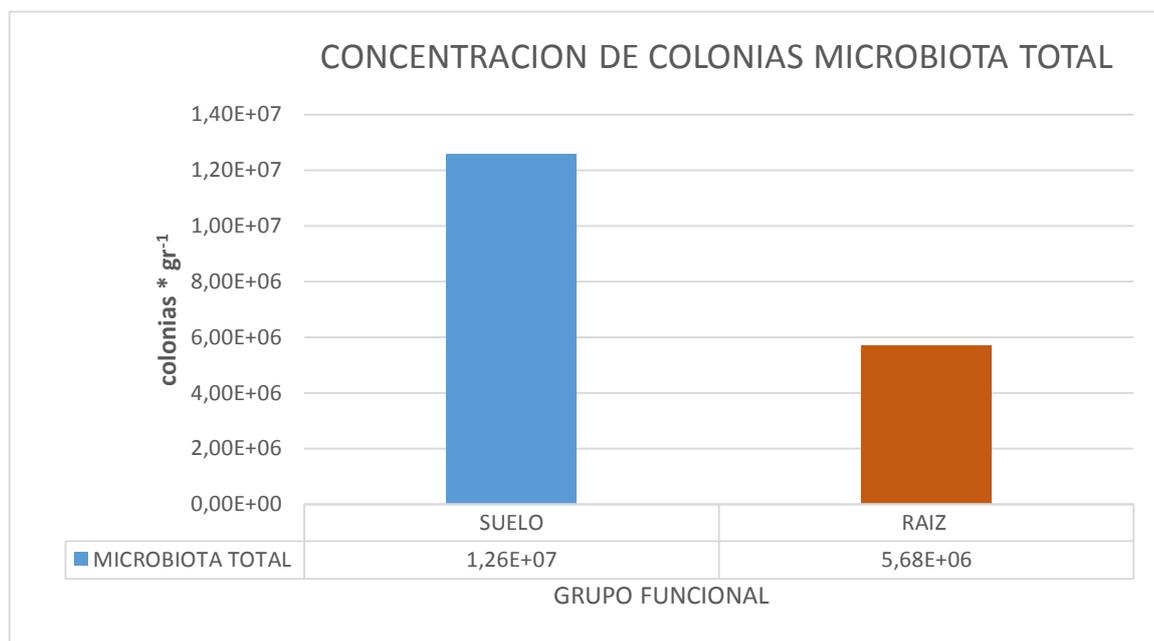
Especie	Lecturas acumulativas	GRUPO FUNCIONAL
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	4,09	Población total de bacterias
<i>Raoultella terrigena</i>	2,291	Población total de bacterias
<i>Stenotrophomonas pavanii</i>	2,039	Bacteria fijadora de nitrógeno
<i>Gemmatimonas phototrophica</i>	1,887	Población total de bacterias
<i>Arenimonas daechungensis</i>	1,428	Población total de bacterias
<i>Rhodanobacter caeni</i>	1,39	Población total de bacterias
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,241	Pseudomonas
<i>Lysobacter dokdonensis</i>	1,214	Población total de bacterias
<i>Legionella tunisiensis</i>	927	Población total de bacterias
<i>Gemmatimonas aurantiaca</i>	708	bacterias celulolíticas

Fuente: (CIBE, 2021), **Elaborado por:** (Nasimba, 2021)

Como se muestra en la (tabla 5) la especie *Raoultella ornithinolytica*, *Raoultella terrigena* y *Stenotrophomonas pavanii* son de mayor prevalencia con lecturas acumulativas de 4,09, 2,291 y 2,039 respectivamente: en relación a los grupos funcionales obtenidos de la muestra podemos decir que la especie *Raoultella ornithinolytica* pertenecen al grupo funcional población total de bacterias seguido de la especie *Raoultella terrigena* y *Stenotrophomonas pavanii* son parte del grupo población total de bacterias y bacterias fijadoras de nitrógeno. la presencia de estas especies con sus características funcionales podrían incidir con el contenido de fósforo y materia orgánica obtenido en el análisis de suelo con 52 ppm de P y 13% de MO (anexo10).

10.2. Determinación de grupos funcionales

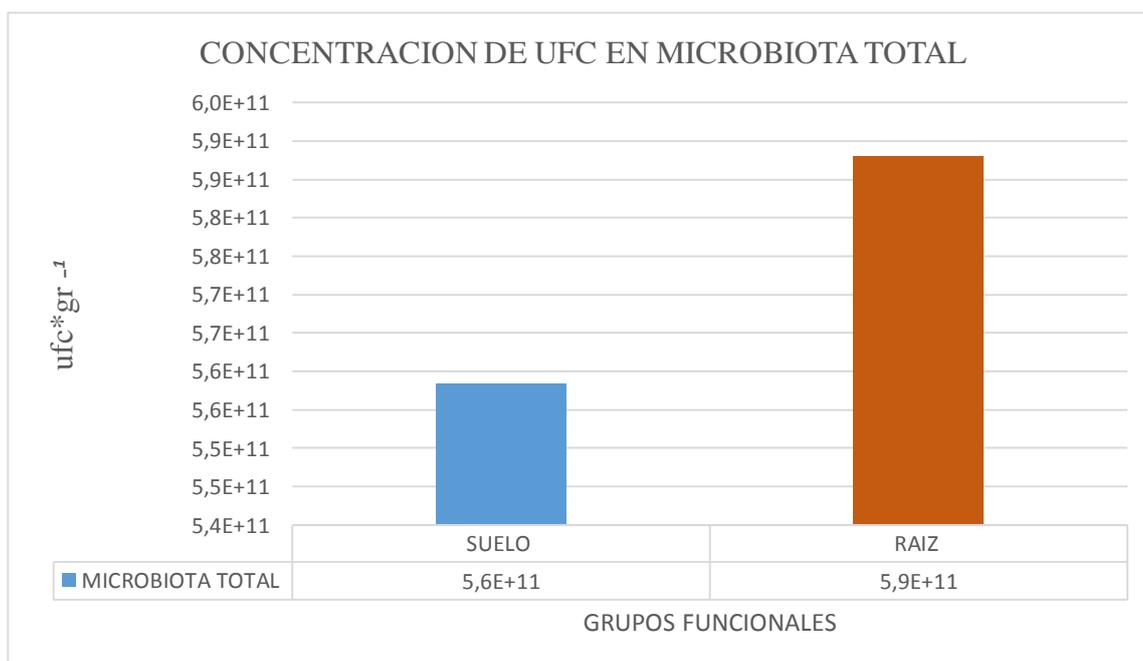
Grafico 1. Concentración de colonias*gr-1 de Microbiota total del suelo



Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 1) encontramos presencia de población total de bacterias con $1,26 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en la muestra de suelo y en muestra de raíz con $5,68 \cdot 10^6$ colonias* gr⁻¹, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

Grafico 2. Concentración de UFC*gr-1 de Microbiota total del suelo

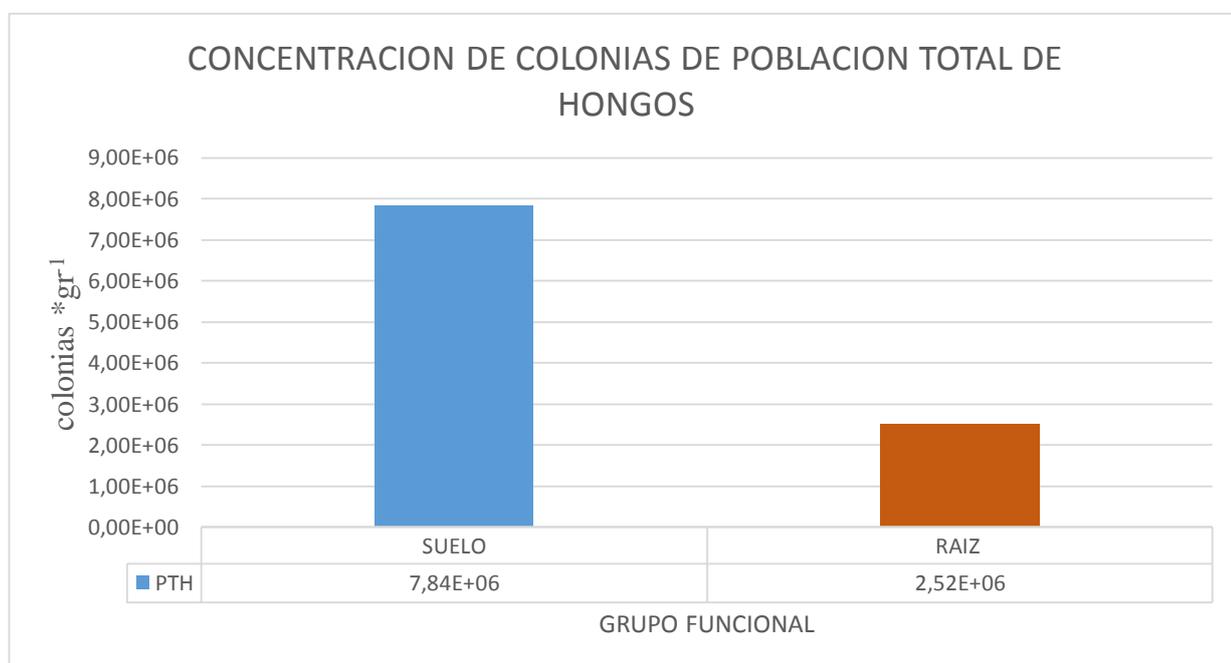


Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 2) encontramos presencia de población total de bacterias con $5,6 \cdot 10^{11}$ ufc*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $5,9 \cdot 10^{11}$ ufc*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

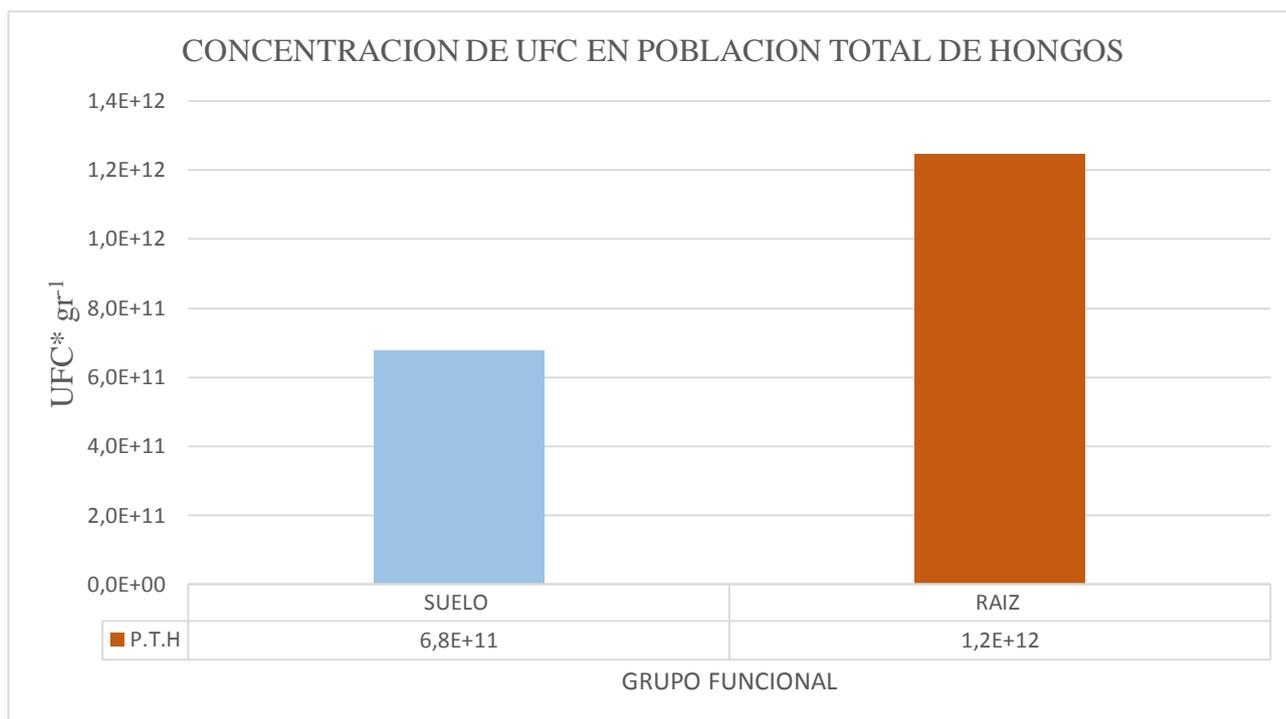
Con el análisis realizado(anexo 10) donde se demuestra que la rizosfera del piso altitudinal de 3800 msnm contiene 13% de materia orgánica, con lo dicho por (Calvo Vélez et al., 2008) en su “Estudio de las poblaciones microbianas de la rizosfera del cultivo de papa en zonas alto andinas”. La cantidad de materia orgánica influye en la presencia de población total de bacterias al tener una alta cantidad es donde la presencia se hace mayor.

Grafico 3. Concentración de colonias*gr-1 de Población total de hongos.



Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 3) encontramos presencia de población total de hongos con $7,84 \cdot 10^6$ colonias*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $2,52 \cdot 10^6$ colonias*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

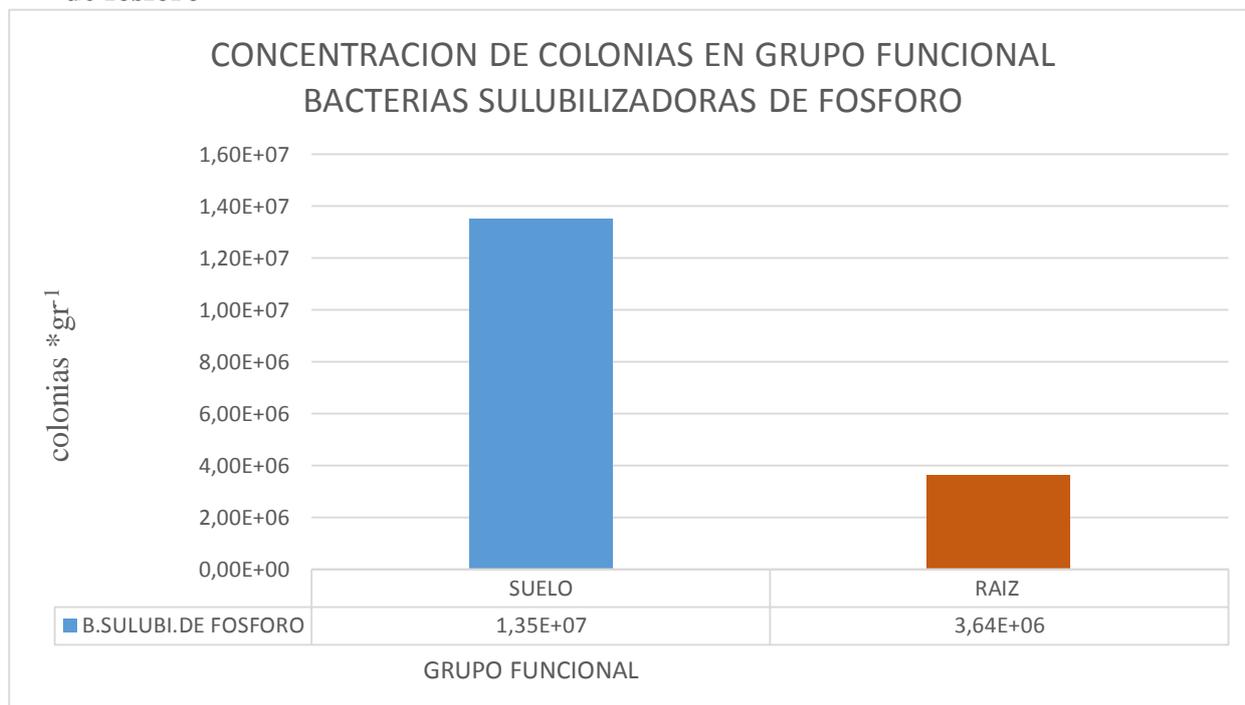
Grafico 4. Concentración de ufc *gr⁻¹ de Población total de hongo

Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 4) encontramos presencia de población total de hongos con $6,8 \cdot 10^{11}$ ufc*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $1,2 \cdot 10^{12}$ ufc*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

Como se presenta en el análisis de suelo (Anexo 16) la cantidad de la materia orgánica presente en la rizosfera del piso altitudinal de 3800 msnm es de 13%, se puede manifestar la presencia de población total de hongos. Con lo dicho por (Pacasa-Quisbert et al., 2017), en su “Estudio Comunidad de hongos filamentosos en suelos del Agro ecosistema de K’iphak’iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha”, y corroborado por otro autor (Pfenning & Abreu, 2011) en su “Investigación Hongos del suelo saprófitos y patógenos de plantas”, donde nos indican que la alta presencia de materia orgánica influye en el grupo funcional mencionado, la población total de hongos ayuda en la descomposición de la materia orgánica, y otras sustancias que se presentan en la rizosfera. Siendo de suma importancia para los cultivos.

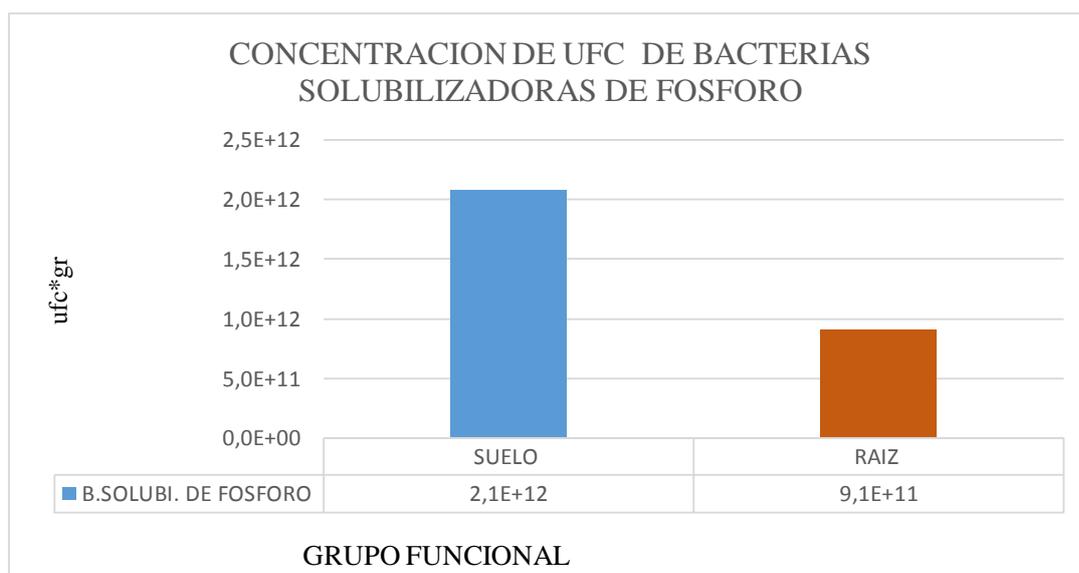
Grafico 5. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional de Solubilizadoras de fosforo



Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 5) encontramos presencia de bacterias solubilizadoras de fosforo con $1,35 \times 10^7$ colonias*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $3,64 \times 10^6$ colonias*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

Grafico 6. Concentración de UFC*gr-1 en el grupo funcional bacterias solubilizadoras de fosforo

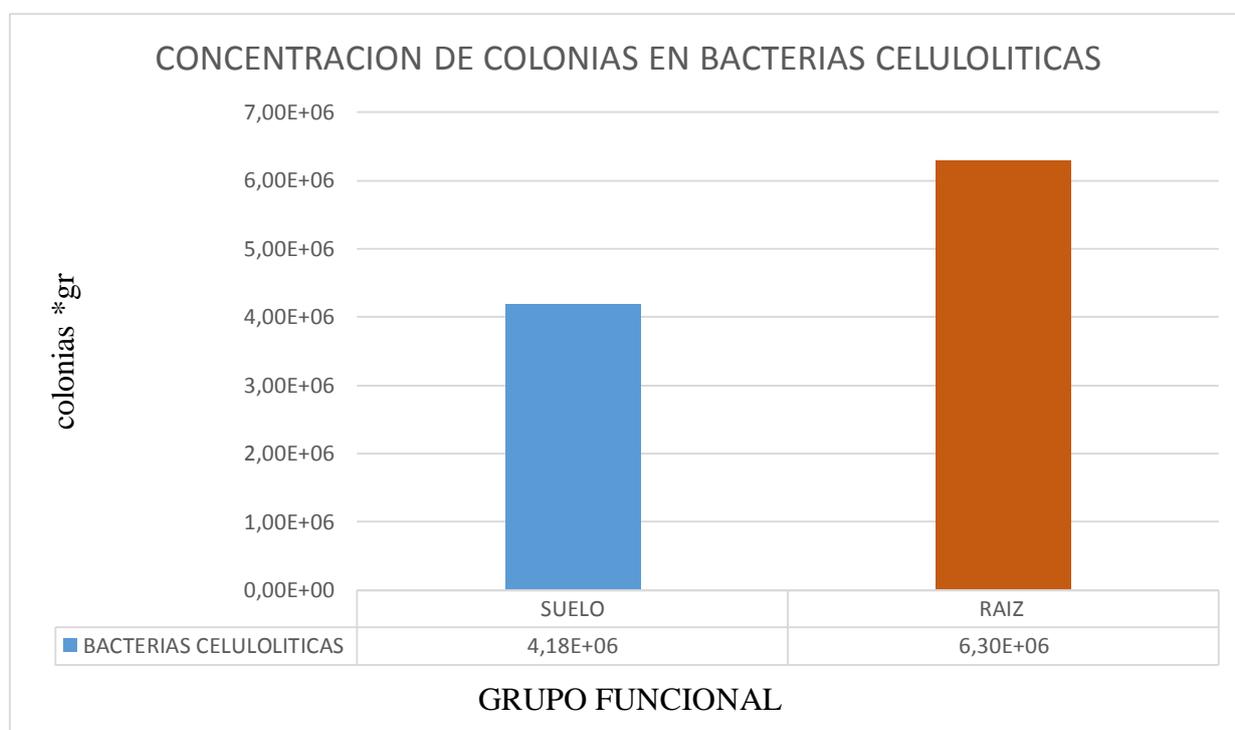


Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 6) encontramos presencia de bacterias solubilizadoras de fosforo con $2,1 \cdot 10^{12}$ ufc*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $9,14 \cdot 10^{11}$ ufc*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

Con el análisis realizado (Anexo 16), donde nos indica que el suelo tiene un ph de 5,88 que es medio ácido y un alto contenido de fosforo con 52 ppm hay existencia del grupo funcional antes mencionado, según la investigación de (Eleonora & Pineda, 2014) con su “Estudio La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal”, la cual nos indica que la presencia de un alto contenido de fosforo atribuye a la presencia del grupo funcional

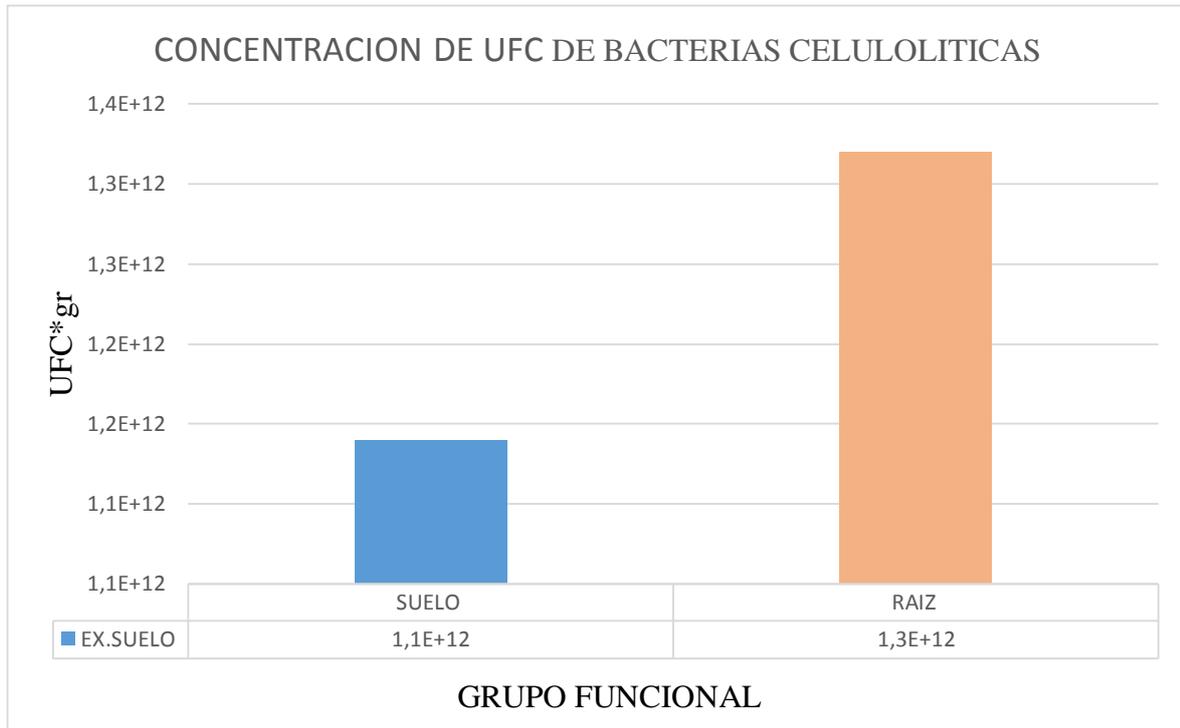
Grafico 7. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional Bacterias celulolíticas



Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 7) encontramos presencia de bacterias celulolíticas con $4,18 \cdot 10^6$ colonias*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $6,30 \cdot 10^6$ colonias*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

Grafico 8. Concentración de ufc*gr-1 de grupo funcional bacterias celulolíticas.

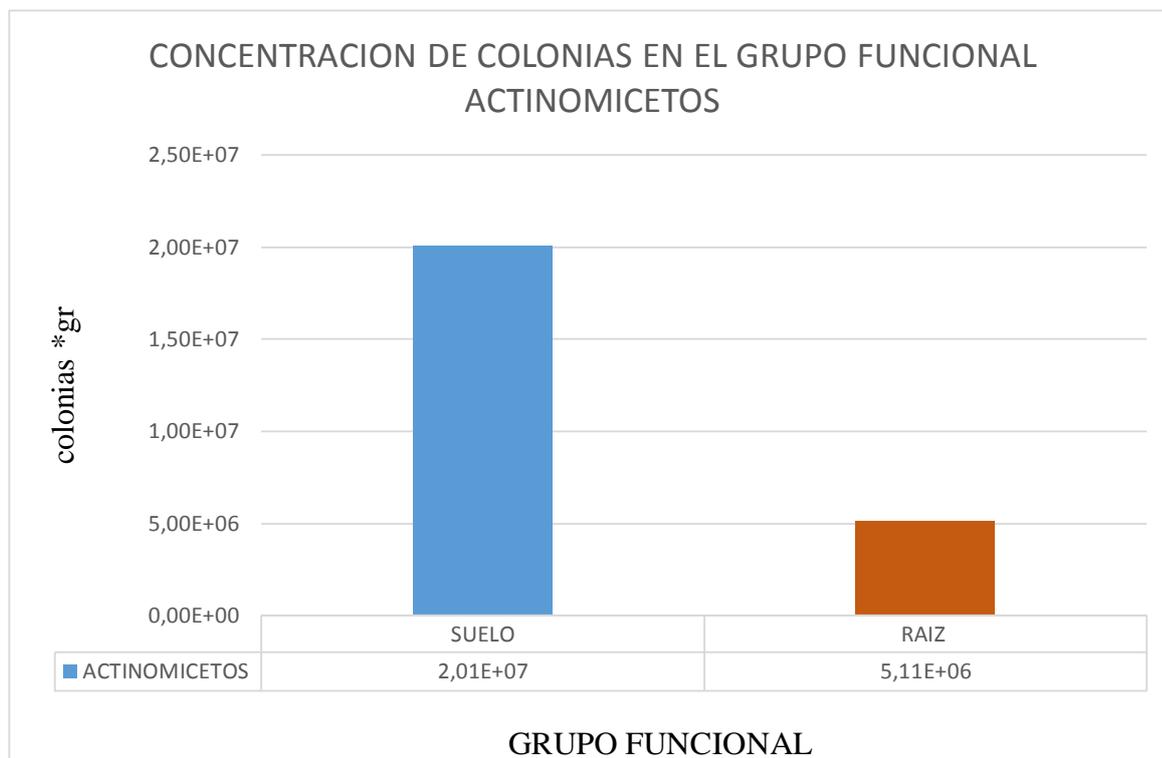


Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 8) encontramos presencia de bacterias celulolíticas con $1,1 \cdot 10^{12}$ ufc*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $1,3 \cdot 10^{12}$ ufc*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

Como menciona (Rodríguez & Llenque, 2016) en su “Estudio Aislamiento y selección de bacterias celulolíticas a partir de compost de residuos orgánicos”. Las bacterias celulolíticas están asociadas a la presencia de población total de bacterias y hongos aeróbicos o anaeróbicos. Cuanta mayor materia orgánica contenga se verá gran cantidad de bacterias celulolíticas que son los responsables del desdoblamiento de celulosa que permite que la planta pueda absorberla.

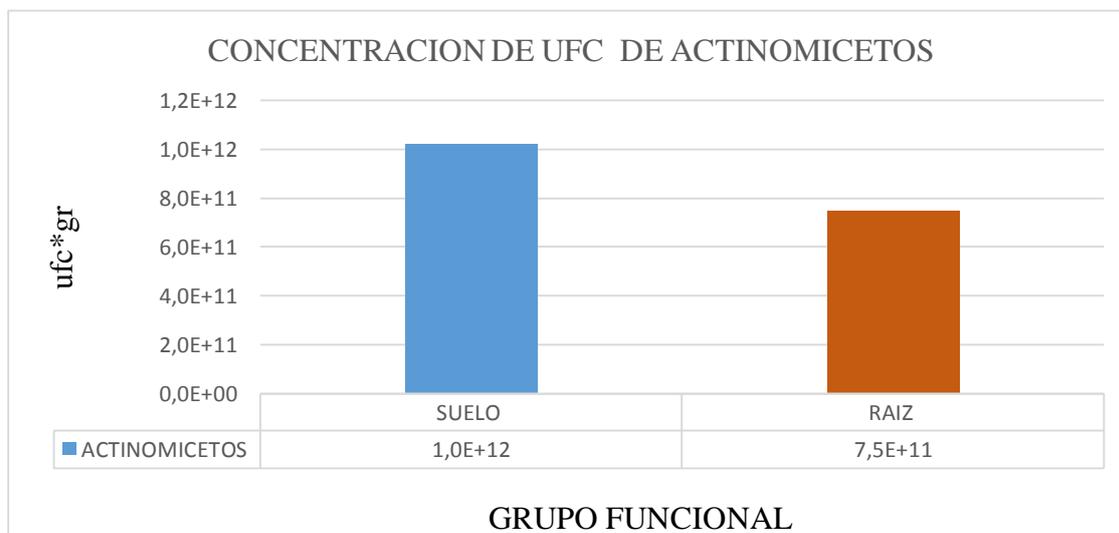
Grafico 9. Concentración de colonias* gr⁻¹ del grupo funcional Actinomicetos



Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 9) encontramos presencia de actinomicetos con $2,01 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $5,11 \cdot 10^6$ colonias*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

Grafico 10. Concentración de UFC* gr⁻¹ del grupo funcional Actinomicetos

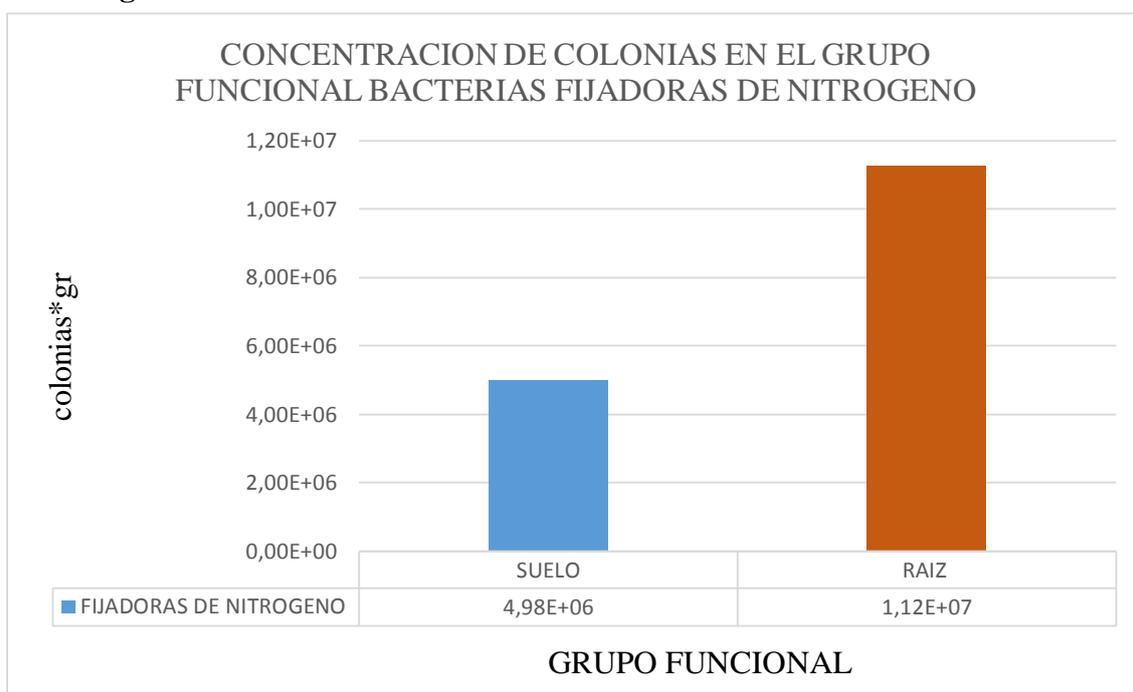


Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 10) encontramos presencia de actinomicetos con $1,0 \cdot 10^{12}$ ufc*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $7,5 \cdot 10^{11}$ ufc*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

Como menciona (**González** , 2010) en su “Estudio los actinomicetos: una visión como promotores de Crecimiento vegetal”. Siendo promotores de crecimiento vegetal se enfocan en agentes controladores de patógenos del suelo mediante la solubilización de fosfatos lo que nos demuestra el alto contenido de fosforo.

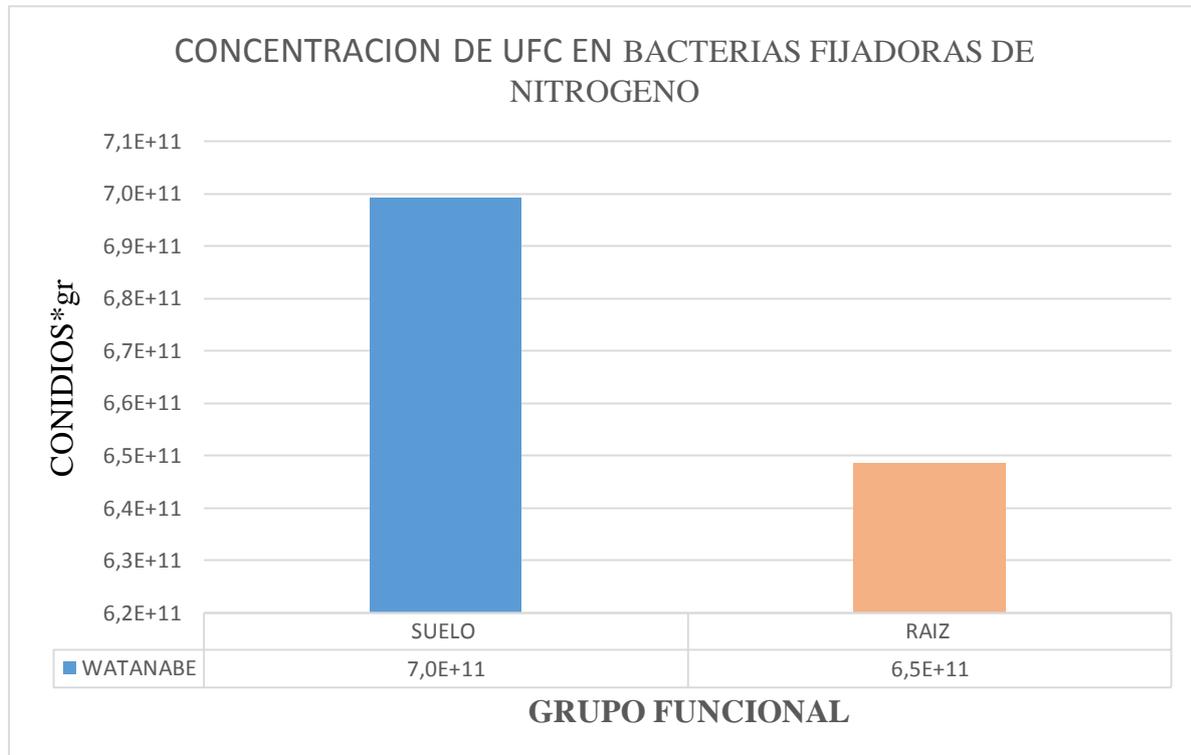
Grafico 11. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional Bacterias Fijadoras de Nitrógeno



Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 11) encontramos presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno con $4,98 \cdot 10^6$ colonias*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $1,12 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de raíz.

Grafico 12. Concentración de ufc*gr-1 en el grupo funcional de bacterias fijadoras de nitrógeno

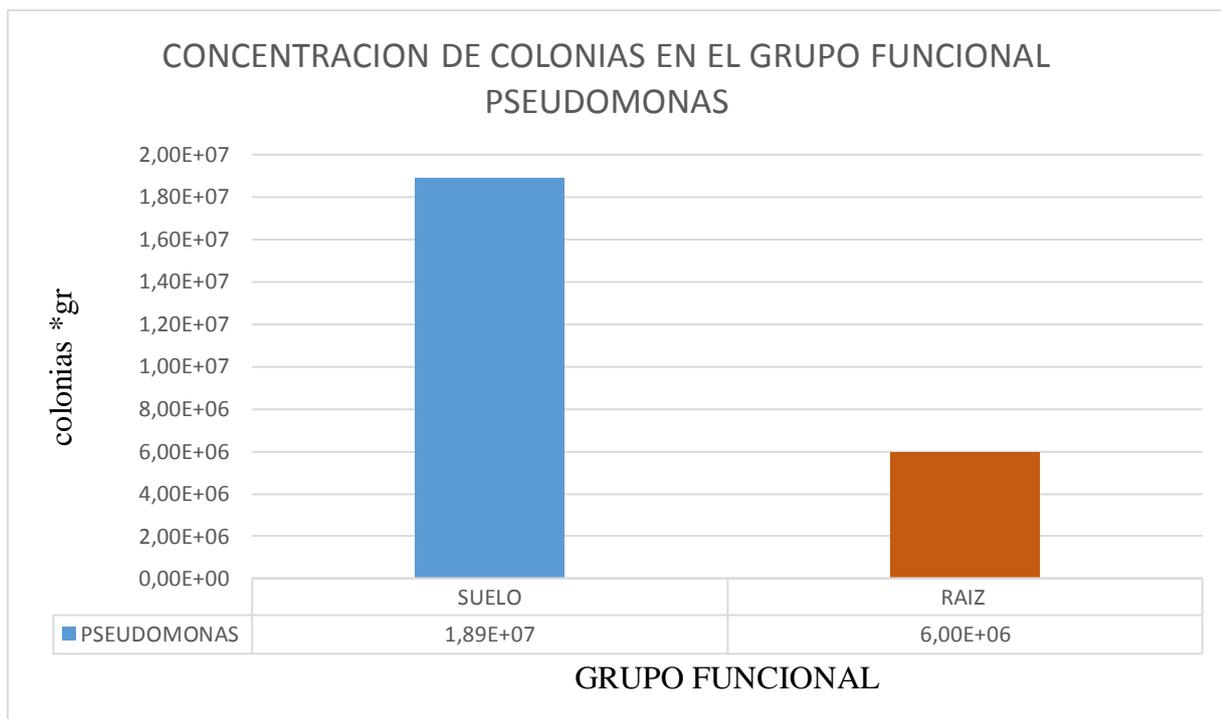


Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 12) encontramos presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno con $7,0 \cdot 10^{11}$ ufc*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $6,5 \cdot 10^{11}$ ufc*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

Como menciona (Suelo, n.d.) Donde menciona que la cantidad de materia orgánica que se encuentre presente en el suelo es la principal fuente de nitrógeno, lo que se relaciona con el análisis realizado donde se demuestra que el piso altitudinal de 3800 msnm cuenta con 13% de materia orgánica presente(anexo 16)

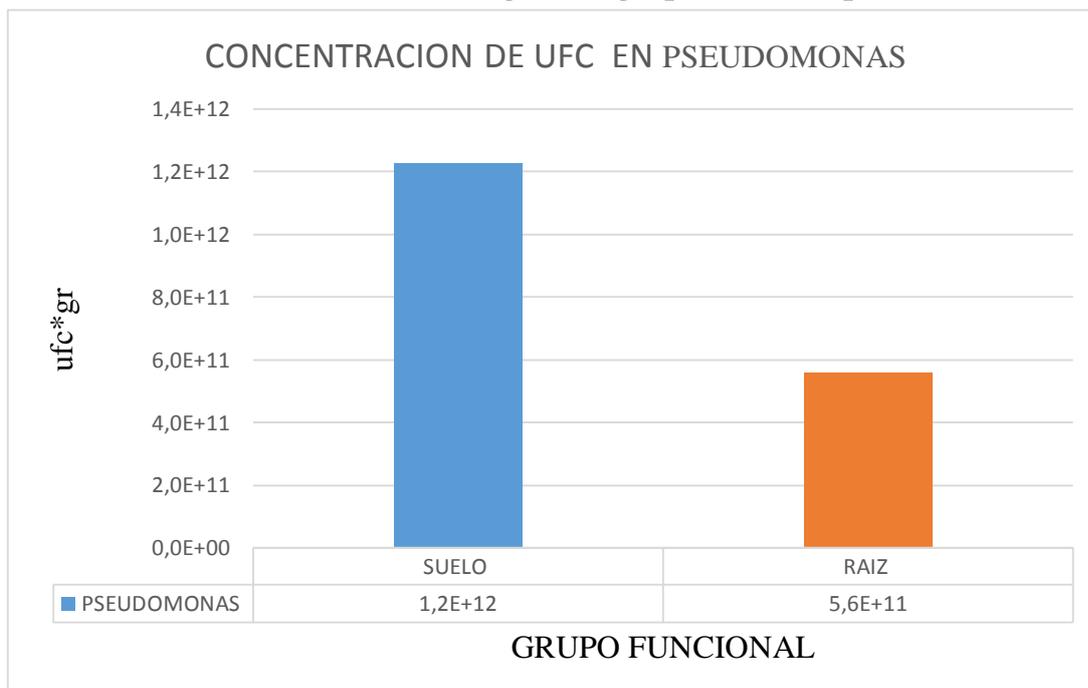
Grafico 13. Concentración de colonias* gr-1 del grupo funcional Pseudomonas



Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 13) encontramos presencia de pseudomonas con $1,89 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $6,00 \cdot 10^6$ colonias*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

Grafico 14. Concentración de ufc*gr-1 del grupo funcional pseudomonas.



Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa (grafico 14) encontramos presencia de pseudomonas con $1,2 \cdot 10^{12}$ ufc*gr⁻¹ en la muestra de suelo y $5,6 \cdot 10^{11}$ ufc*gr⁻¹ en muestra de raíz, teniendo mayor representación en la muestra de suelo.

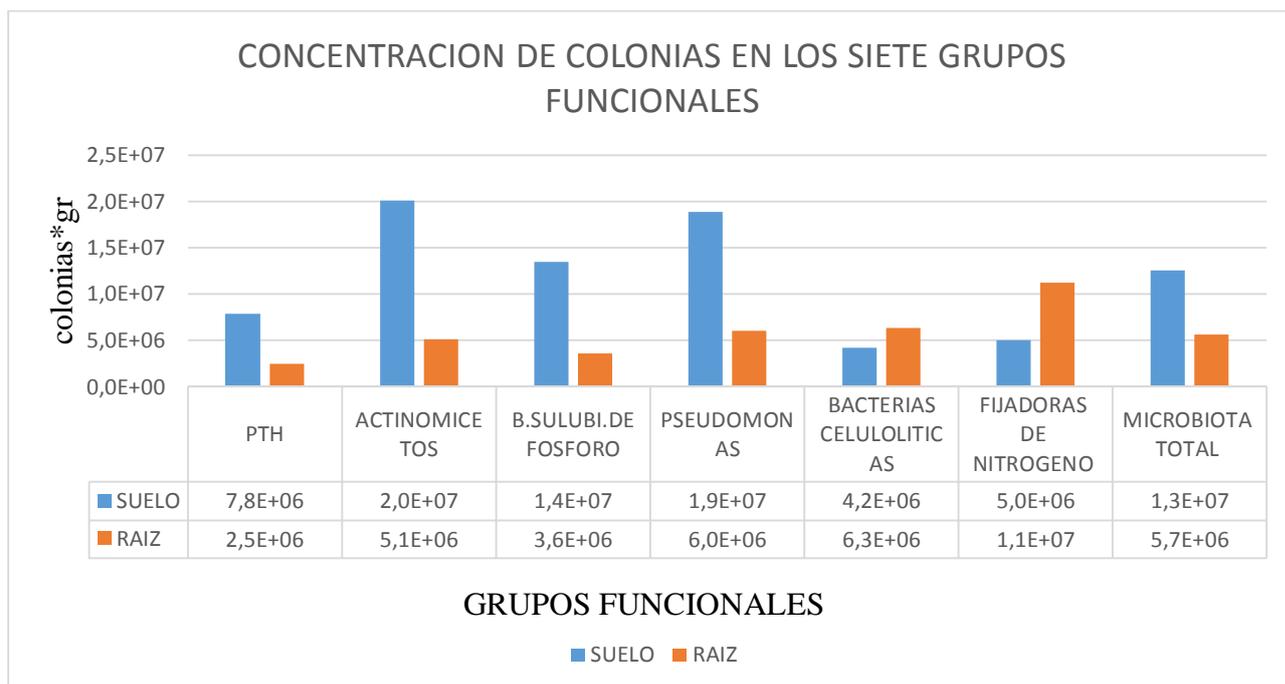
Como menciona (Uribe et al., 1999) en su “Estudio de Diversidad de pseudomonas fluorescentes en cultivos de papa de la región Cundiboyacense y su actividad antagonista in vitro sobre *Rhizoctonia solani*”. El microhábitat específico y por consiguiente la composición y actividad de los microorganismos a nivel rizosférico deben estar principalmente determinados por los exudados secretados por la planta y algunas condiciones físicas y químicas del suelo como materia orgánica, pH, humedad y nutrientes minerales para el desarrollo de Microbiota incluyendo *Pseudomonas*. Esto se corrobora con el análisis de suelo (anexo 16), condiciones del suelo muestreado presentan características ideales para el desarrollo óptimo de *Pseudomonas* y por ende una mayor concentración de UFC en el conteo respectivo.

10.3. Concentración de colonias *gr⁻¹ por grupo funcional en muestras de suelo y raíz

Tabla 7. Concentración de colonias*gr⁻¹ por grupo funcional en muestras de suelo y raíz

GRUPOS FUNCIONALES	SUELO	RAIZ
PTH	7,8E+06	2,5E+06
ACTINOMICETOS	2,0E+07	5,1E+06
B.SULUBI.DE FOSFORO	1,4E+07	3,6E+06
PSEUDOMONAS	1,9E+07	6,0E+06
BACTERIAS CELULOLITICAS	4,2E+06	6,3E+06
FIJADORAS DE NITROGENO	5,0E+06	1,1E+07
MICROBIOTA TOTAL	1,3E+07	5,7E+06

Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Grafico 15. Concentración de colonias* gr-1 en siete grupos funcionales.

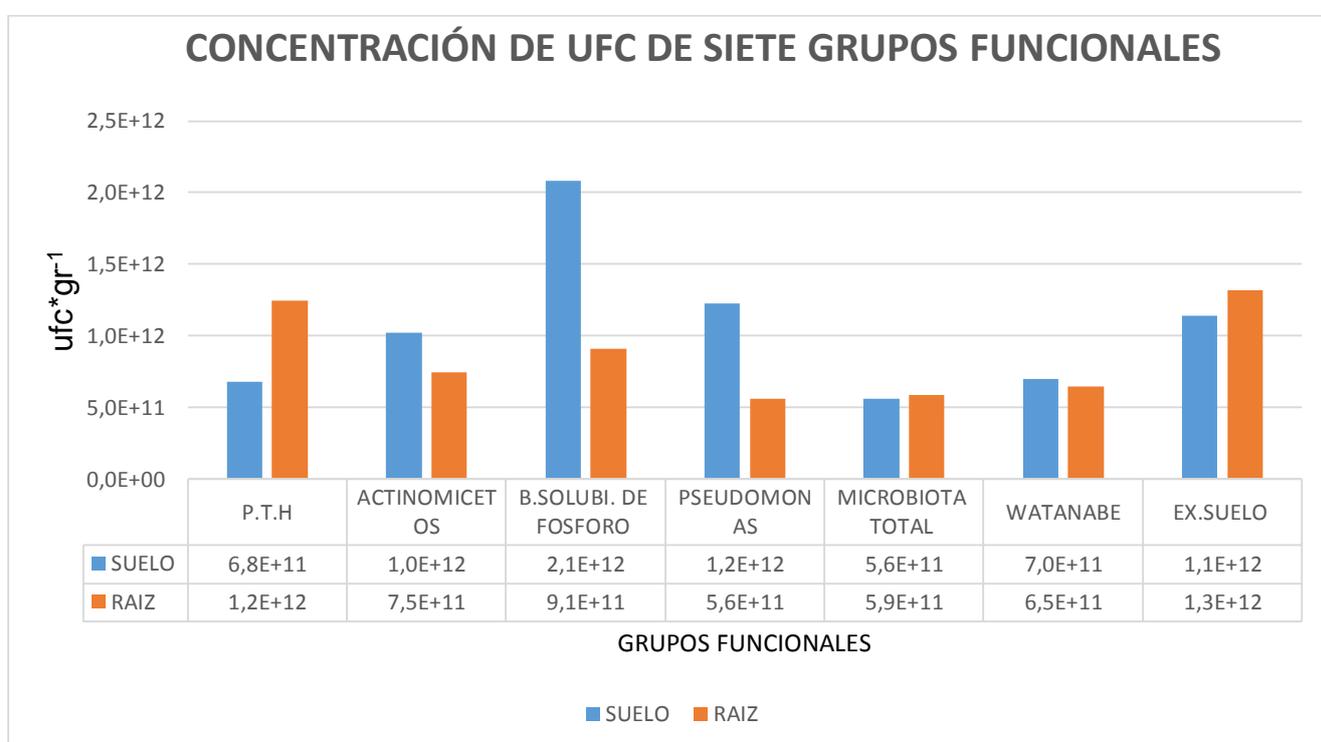
Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observar (grafico 15) encontramos los grupos funcionales y colonias en la rizosfera de la papa a 3800 msnm. Existe presencia de todos los grupos investigados, siendo los que mayor número de colonias presentan los actinomicetos, pseudomonas y solubilizadoras de fosforo, con $2,0 \cdot 10^7$ colonias $\cdot \text{gr}^{-1}$, $1,9 \cdot 10^7$ colonias $\cdot \text{gr}^{-1}$ y $1,4 \cdot 10^7$ colonias $\cdot \text{gr}^{-1}$ respectivamente en muestra de suelo, en la muestra de raíz se encontró todos los grupos estudiados siendo los más representativas bacterias fijadoras de nitrógeno con $1,1 \cdot 10^7$ colonias $\cdot \text{gr}^{-1}$, seguida de bacterias celulolíticas $6,3 \cdot 10^6$ colonias $\cdot \text{gr}^{-1}$ y pseudomonas con $6,0 \cdot 10^6$ colonias $\cdot \text{gr}^{-1}$, los datos obtenidos difieren con la investigación de (Cruz, 2021) quien menciona en su estudio a 3400 msnm obtuvo mayor presencia de Pseudomonas, Bacterias solubilizadoras de fosforo y Poblacion total de bacterias donde los mismos presentan mayor número de colonias en suelo.

Tabla 8. Concentración de ufc*gr⁻¹ por grupo funcional en muestras de suelo y raíz

CONIDIOS	SUELO	RAIZ
P.T.H	6,8E+11	1,2E+12
ACTINOMICETOS	1,0E+12	7,5E+11
B.SOLUBI. DE FOSFORO	2,1E+12	9,1E+11
PSEUDOMONAS	1,2E+12	5,6E+11
MICROBIOTA TOTAL	5,6E+11	5,9E+11
WATANABE	7,0E+11	6,5E+11
EX.SUELO	1,1E+12	1,3E+12

Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Grafico 16. Concentración de ufc* gr⁻¹ en siete grupos funcionales

Elaborado por: (Nasimba, 2021)

Como se observa en el (grafico 16) de los grupos funcionales y UFC en la rizosfera de la papa a 3800 msnm. existe presencia de todos los grupos investigados, siendo los que mayor número de ufc presentan bacterias solubilizadoras de fosforo con $2,1 \times 10^{12}$ ufc*gr⁻¹, seguida de pseudomonas con $1,2 \times 10^{12}$ ufc*gr⁻¹ y actinomicetos con $1,0 \times 10^{12}$ ufc*gr⁻¹, en muestra de suelo, en la muestra de raíz se encontró todos los grupos estudiados siendo los más representativas bacterias celulolíticas, población total de hongos y bacterias solubilizadoras de nitrógeno, los datos obtenidos difieren con la investigación de (Cruz, 2021) quien menciona en su estudio a 3400 msnm obtuvo mayor presencia de Poblacion

total de bacterias, bacterias celulolíticas y bacterias solubilizadoras de fosforo donde los mismos presentan mayor número de ufc*gr de suelo.

11. CONCLUSIONES

- En el piso altitudinal de 3800 msnm en el suelo asociado a la papa var. Superchola se identificó como la familia más representativa fue Enterobacteriaceae con 75,596 lecturas acumulativas seguida de la familia Xanthomonadaceae con 7,042 lecturas acumulativas.
- En el piso altitudinal de 3800 msnm en el suelo asociado a la papa var. Superchola se identificó como el género con mayor representación fue Raoultella con 4,468 lecturas acumulativas, seguida del genero Rhodanobacter con 3,146 lecturas acumulativas.
- En el piso altitudinal de 3800 msnm en el suelo asociado a la papa var. Superchola se identificó la especie más representativa Raoultella ornithinolytica con 4,09 lecturas acumulativas, seguida de la especie Raoultella terrigena con 2,291 lecturas acumulativas
- Los grupos funcionales con mayor presencia en la rizosfera del cultivo de la papa fueron solubilizadoras de fosforo y en segundo lugar pseudomonas.
- Se determinó que los grupos funcionales con mayor presencia están dentro de las familias con mayores lecturas acumulativas.

12. RECOMENDACIONES

- Se recomienda aplicar la investigación en los pisos altitudinales bajos de 3000 msnm, 2500 msnm y así tener una visión general en todos estos parámetros en toda la comunidad productiva de la papa
- Se recomienda identificar consorcios bacterianos en el área foliar del cultivo de la papa, para determinar las relaciones entre componen suelo y foliar.

13. BIBLIOGRAFIA:

- Amils, R. (2011). Protoplast. *Encyclopedia of Astrobiology*, 1377–1377.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-11274-4_1302
- Baez, F., Perdomo, C., Pincay, A., Tello, C., Villamizar, L., Jackson, T., Jaronski, S., & Viera, W. (2019). *Manual de analisis de calidad para formulaciones con base en hongos biocontroladores* (p. 15).
- Bernal Gomez, G. (2006). X Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo LA MICROBIOLOGIA DE SUELOS EN EL ECUADOR : X Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo. *X Congreso Ecuatoriano de La Ciencia Del Suelo*, 1–12.
- Bolaños A. (2015). Evaluación de diferentes orígenes de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) provenientes de tres sistemas de producción en dos localidades de la sierra ecuatoriana. *Universidad Central Del Ecuador*.
- Calvo Vélez, P., Reymundo Meneses, L., & Zúñiga Dávila, D. (2008). ESTUDIO DE LAS POBLACIONES MICROBIANAS DE LA RIZÓSFERA DEL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum*) EN ZONAS ALTOANDINAS. *Ecología Aplicada*, 7(1–2), 141. <https://doi.org/10.21704/rea.v7i1-2.369>
- Camelo R., M., Vera M., S. P., & Bonilla B., R. R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12(2), 159. https://doi.org/10.21930/rcta.vol12_num2_art:227
- Chicaiza, V., & Cuy, O. (2018). Universidad técnica de cotopaxi. *Universidad Técnica De Cotopaxi Facultad, 1*, 101.
<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4501/1/PI-000727.pdf>
- Cruz. (2021). *ANALISIS DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (Solanum tuberosum). VAR. SUPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3400 msnm, COTOPAXI, 2021.*
- Eleonora, M., & Pineda, B. (2014). *La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal Phosphate solubilization as a microbial strategy for promoting plant growth. 15*, 101–113.
- Ferrera, R., & Alarcón, A. (2001). The Microbial Activity in the Agroecosystem. *Ciencia Ergo Sum*, 8(2), 175–183.
- Investigaci, C. D. E. (n.d.). *Aislamiento y caracterización parcial de actinomicetos de suelos con actividad antimicrobiana contra bacterias multidrogo-resistentes*

- Isolation and partial characterization of soils actinomycetes with antimicrobial activity against multidrug-resistant bac. XIX(2), 15–23.*
- Lim, T. K. (2016). *Solanum tuberosum. Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*, 12–93. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26065-5_2
- Loaiza, D. (2017). “*BACTERIAS CELULOLÍTICAS CON CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS DEL INTESTINO DE TERMITAS Y SU EVALUACIÓN COMO POTENCIALES DEGRADADORAS DE TOTORA (Schoenoplectus tatora).*” 50–100. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/8494>
- Lorena, M., Edgar, B., Alfredo, G., Luna-guevara, M. L., Delgado-alvarado, A., Herrera-cabrera, B. E., & Alfredo, G. (2012). *Scientia Agropecuaria Diversidad de enterobacterias asociadas a frutos de tomate (Lycopersi- cum sculentum Mill) y suelos de invernadero Diversity of enterobacteria associated with tomato (Lycopersicum scu- lentum Mill) fruits and greenhouse soils.*
- Maria, D., & Bohorquez, G. (2007). *Aislamiento y evaluacion de microorganismos celuloliticos a partir de residuos vegetales frescos y en compost generados en un cultivo de crisantemo (.*
- Montalvillo, D. A. (2002). Resumen Palabras clave. *Rev Fac Nac Salud Pública*, 20, 1–17. <http://www.redalyc.org/pdf/120/12020109.pdf>
- Naturales, R. (2017). *Universidad tecnológica equinoccial.*
- No Title.* (n.d.). 1–3.
- No Title.* (2010).
- Nuria Bonilla. (2012). Organic amendments and land management affect bacterial community composition,. *Diversity and Biomass in Avocado Crop Soils. Plant and Soil.*
- Ochoa Carreño, D. C., & Montoya Restrepo, A. (2010). Consorcios Microbianos: Una Metáfora Biológica Aplicada a La Asociatividad Empresarial En Cadenas Productivas Agropecuarias Tt - Microbial Consortia: a Biological Metaphor Applied To Enterprise Association in Agricultural Production Chains Tt - Consórci. *Revista Facultad de Ciencias Económicas: Investigación y Reflexión*, 18(2), 55–74. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-68052010000200004&lang=pt%0Ahttp://www.scielo.org.co/pdf/rfce/v18n2/v18n2a04.pdf
- Orijel, R. G., Ortuño, I. S., Levy, P. B., Miguel, A., Baqueiro, F., & Martorell, C. (2008). Grupos funcionales. *Capital Natural de México, I*, 365–412.

- Pacasa-Quisbert, F., Loza-Murguía, M. G., Bonifacio-Flores, A., VINO-NINA, L., & Serrano-Canaviri, T. (2017). Comunidad de hongos filamentosos en suelos del Agroecosistema de K'iphak'iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 8(1), 2–25.
<https://doi.org/10.36610/j.jsars.2017.080100002>
- Pfenning, L. H., & Abreu, M. De. (2011). Hongos del suelo saprófitos y patógenos de plantas. *Manual de Biología de Suelos Tropicales*, 243–280.
- Pozuelo, J. (1991). Estudio de grupos funcionales de microorganismos edáficos en la rizosfera de *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *Facultad de Ciencias Biológicas/Universidad Complutense. Madrid, España*.
- Rodríguez, L. A., & Llenque, L. (2016). Aislamiento y selección de bacterias celulolíticas a partir de compost de residuos orgánicos *Isolation and selection of cellulolytic bacteria from compost organic waste*. 36(1), 19–28.
- Sepúlveda-robles, J. (2015). *Revisión de modelos matemáticos para captura de agua y nutrientes por la raíz de las plantas*. 47–59.
- Suelo, E. N. E. L. (n.d.). *BACTERIAS FIJADORAS DE NITROGENO*. 3.
UpoTV - Conteo de bacterias viables. (n.d.).
- Virgen, G. (2009). *La Importancia de la Rizósfera*.

14. ANEXOS

Anexo 1. Protocolo de elaboración de los medios de cultivos para los siete grupos funcionales,.

MEDIOS DE CULTIVO

GRUPO FUNCIONAL Y MEDIO UTILIZADO	DOSIS
<p><u>POBLACIÓN TOTAL DE BACTERIAS</u></p> <p>AGAR NUTRITIVO</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Agua destilada ▶ Agar nutritivo ▶ Ph 	<p>1000 ml</p> <p>20 g/l</p> <p>7.0</p>
<p>PROCEDIMIENTO:</p> <p>En un frasco con tapa se coloca 1000 ml de agua destilada y se pesan 20 g de agar nutritivo. Se lo lleva a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizándolo en 7.0 con el uso de ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio 1N. Se lo esteriliza en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.</p>	
<p><u>POBLACIÓN TOTAL DE HONGOS</u></p> <p>AGAR ROSA DE BENGALA</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ D – Glucosa ▶ Peptona micológica ▶ Fosfato monopotásico ▶ Sulfato de magnesio hidratado ▶ Rosa de bengala ▶ Estreptomicina ▶ Agar ▶ Agua destilada ▶ Ph 	<p>10 g/l</p> <p>5 g/l</p> <p>1 g/l</p> <p>0.5 g/l</p> <p>0.035 g /l</p> <p>30 mg/l</p> <p>15 g/l</p> <p>1000 ml</p> <p>5.5</p>

PROCEDIMIENTO:

En un recipiente con tapa se coloca 1000 ml de agua destilada en la que se va colocando todos los reactivos en las cantidades establecidas, excepto la estreptomocina. 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 lo esteriliza en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión. Luego, la estreptomocina se diluye en 10 ml de agua y se la añade antes de dispensar el medio en las respectivas cajas, con la ayuda de una jeringuilla y un filtro. La estreptomocina inhibe el desarrollo y crecimiento de bacterias, permitiendo que solo los hongos aparezcan.

BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO**AGAR RAMOS CALLAO**

▶ Extracto de levadura	2 g/l
▶ Glucosa	20 g/l
▶ Fosfato tricálcico	2 g/l
▶ Agua destilada	1000 ml
▶ Agar	22 g/l
▶ pH	7

PROCEDIMIENTO:

En un recipiente con tapa se coloca 1000 ml de agua destilada en la que se va colocando el extracto de levadura, la glucosa y el fosfato tricálcico, en las cantidades indicadas. Se lo lleva a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, 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 (PO_4HK_2)	0.5 g/l
▶ Nitrato de amonio (NO_3NH_4)	0.15 g/l
▶ Carboximetilcelulosa	1.25 g/l
▶ Agar	20 g/l
▶ Extracto de suelo	100 ml
▶ pH	6.5

PROCEDIMIENTO:

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

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

El extracto de suelo se lo obtiene mediante la recolección de tierra de jardín rica en humus. Se limpia la hojarasca o impurezas de la superficie, se toma aproximadamente 1 kilogramo de suelo el mismo que se tamiza a un malla menor a 2 mm, hasta obtener una muestra de 500 gramos. Luego en 1000 ml de agua corriente se coloca el suelo y se agita bien. Se esteriliza en erlenmeyer amplio en el autoclave por 15 minutos

a 15 libras de presión. Se lo retira y se deja decantar lo suficiente para luego filtrarlo a través de papel Whatman (papel filtro) en una bomba de vacío por lo menos dos veces. El filtrado es llevado a la centrifuga, a 3600 rpm, por 20 minutos. De la solución final se toma 100 ml y se añade a la solución inicial del medio de cultivo, se lo lleva a la agitadora y se regula el pH a 6.5, al final se añade el agar. El medio se lo esteriliza en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.

<u>ACTINOMICETES</u>	
AGAR CASEÍNA	
▶ Almidón soluble	10 g
▶ Caseína	1 g
▶ KH ₂ PO ₄	0.5 g
▶ Agar	10 g
▶ pH	7.1
PROCEDIMIENTO: En un recipiente con tapa se coloca 950 ml de agua destilada, se coloca la caseína, el fosfato monopotásico. El almidón debe ser diluido a parte al calor en 50 ml de agua destilada hasta que esté transparente, sin llegar a ebullición, entonces se lo pasa a la formulación final. Se lo lleva a la agitadora, se estabiliza el pH en 7.0, y se coloca el agar, para luego esterilizar en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.	
<u>BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO</u>	
WATANABE	
▶ Glucosa	5 g/l
▶ Manitol	5 g/l
▶ Almidón	4.5 g/l
▶ Ácido málico	3.5 g/l
▶ Agar	1.75 g/l
▶ pH	6.8 – 7.2
▶ Solución II	50 ml
▶ Solución III	15 ml
▶ Bromotimol azul al 1% en etanol	2 ml
▶ Agua destilada	Aforar a 1000 ml
SOLUCIÓN I	
▶ H ₃ BO ₃	750 mg/l
▶ ZnSO ₄ . 7H ₂ O	550 mg/l
▶ CoSO ₄ . 7H ₂ O	350 mg/l
▶ CuSO ₄ . 4H ₂ O	21.8 mg/l
▶ MnCl ₂ . 4H ₂ O	20 mg/l
▶ Agua destilada	1000 ml
SOLUCIÓN II	
▶ FeSO ₄ . 7H ₂ O	0.8 g/l
▶ MgSO ₄ . 7H ₂ O	4.0 g/l
▶ Na ₂ MoO ₄ . 7H ₂ O	0.1180 g/l
▶ CaCl ₂ . 2H ₂ O	4 g/l
▶ EDTA ácido	0.8 g/l
▶ Solución I	4 ml/l
▶ Agua destilada	1000 ml
SOLUCIÓN III	
▶ KH ₂ PO ₄	40 g/l
▶ K ₂ HPO ₄	60 g/l
▶ Agua destilada	1000 ml
PROCEDIMIENTO:	

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

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

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

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

Pseudomonas

B de King

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

Ingredientes

Peptona 20

Agar purificado 12

K₂HPO₄ (anhidro) 1,5

MgSO₄ · 7 H₂O (anhidro) 1,5

Proceso:

- Todos estos son para 1 litro
- Creo que cada alumno necesita 1 litro para su experimento

Anexo 2. Tabla de conteno en cámara neubauer y cuenta colonias del grupo funcional población total de bacterias (Microbiota total)

MEDIO DE CULTIVO	AGAR NUTRITIVO		
GRUPO FUNCIONAL	MICROBIOTA TOTAL		
VARIEDAD	CHOLA		
ALTITUD	3800		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ		
	SU.COLONIAS		RAIZ COLONIAS
E1	222	E6	20
E2	160	E7	50
E3	104	E8	79
E4	73	E9	99
E5	69	E10	36

CAJA E1	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	FORMULA
CUADRANTE 1	0	2	0	1	1	11	0	4	1	0	0	4	0	1	0	0	4	3	4	41	5,58E+11
CUADRANTE 2	0	3	0	0	3	8	3	2	5	0	1	2	0	3	5	2	2	2	13	56	
CAJA E2	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	3	1	0	6	1	1	4	0	0	2	2	0	0	3	3	0	1	0	1	28	
CUADRANTE 2	1	1	0	3	1	2	4	0	2	0	0	1	3	0	1	3	2	4	2	30	
CAJA E3	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	0	1	1	8	0	1	6	0	3	4	4	5	1	6	3	3	4	0	4	54	
CUADRANTE 2	0	0	0	3	2	4	2	5	2	0	3	2	0	4	2	2	2	0	4	42	

CAJA E4	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	1	0	2	3	14	6	0	3	1	1	0	0	2	4	0	0	2	0	1	42
CUADRANTE 2	4	3	2	0	3	2	0	3	5	2	6	0	1	3	0	2	8	0	1	52
CAJA E5	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	7	4	8	8	11	10	11	5	6	11	10	3	8	9	7	17	15	4	8	172
CUADRANTE 2	10	9	4	7	14	5	10	10	11	5	13	7	10	11	11	6	8	12	10	181

RAIZ

CAJA E6	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	FORMULA								
CUADRANTE 1	0	6	1	3	0	2	0	0	4	0	0	4	3	3	4	3	3	2	4	49	5,88E+11								
CUADRANTE 2	0	2	2	0	1	2	7	3	2	3	0	0	0	7	4	0	1	3	5	42		5,88E+11							
CAJA E7	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				5,88E+11						
CUADRANTE 1	0	5	0	2	0	3	5	0	0	3	2	0	1	0	0	0	2	0	2	40				5,88E+11					
CUADRANTE 2	0	4	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	8	5	1	10	0	2	40					5,88E+11				
CAJA E8	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20							5,88E+11			
CUADRANTE 1	0	0	2	9	11	6	8	5	12	7	7	6	9	6	0	8	6	9	4	115							5,88E+11		
CUADRANTE 2	0	4	9	3	3	6	7	8	3	11	10	5	33	8	9	6	8	3	2	140								5,88E+11	
CAJA E9	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20										5,88E+11
CUADRANTE 1	0	0	1	0	3	9	0	0	5	0	0	2	4	0	0	0	2	6	2	34									
CUADRANTE 2	1	6	0	3	2	0	6	0	8	6	20	7	0	3	0	1	9	6	5	88	5,88E+11								
CAJA E10	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			5,88E+11							
CUADRANTE 1	5	0	3	3	4	2	11	8	12	5	11	8	6	1	4	5	8	0	0	96			5,88E+11						
CUADRANTE 2	5	0	0	7	5	3	3	3	1	0	2	8	7	6	7	7	10	7	5	91				5,88E+11					

CUADRANTE 2	1	4	2	3	3	1	6	5	6	20	3	5	4	10	1	7	2	1	8	98			
CAJA A4	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
CUADRANTE 1	31	7	6	4	6	1	0	5	20	6	1	0	0	20	0	1	60	0	100	278			
CUADRANTE 2	1	1	0	0	10	20	0	0	2	0	10	0	2	2	0	2	0	1	4	59			
CAJA A5	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
CUADRANTE 1	0	0	2	3	4	1	0	8	2	6	0	0	4	1	0	1	2	0	0	37			
CUADRANTE 2	3	4	0	0	2	4	0	4	14	6	0	0	3	0	0	0	0	3	11	58			
MUESTRA DE RAIZ																							
CAJA A6	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	FORMULA		
CUADRANTE 1	2	16	4	23	26	13	4	25	7	2	4	21	11	10	17	33	15	15	12	274			
CUADRANTE 2	1	6	12	6	8	8	14	2	12	8	1	5	6	2	0	8	0	5	3	114			
CAJA A7	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
CUADRANTE 1	1	4	2	2	3	1	2	4	44	2	4	1	1	6	5	2	28	2	13	137			
CUADRANTE 2	12	1	3	2	0	0	9	0	1	5	9	0	5	6	3	9	1	7	7	81			
CAJA A8	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
CUADRANTE 1	16	8	10	29	0	1	0	0	16	9	0	0	1	9	0	0	0	0	3	140			
CUADRANTE 2	0	17	3	1	1	0	1	0	1	0	1	0	2	7	5	21	6	0	9	79			
CAJA A9	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
CUADRANTE 1	6	10	33	9	38	11	3	18	14	13	15	14	6	25	21	11	6	9	13	346			
CUADRANTE 2	17	19	31	14	3	12	5	19	9	5	3	26	23	4	10	21	16	26	31	325			
CAJA A10	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				
CUADRANTE 1	1	5	1	0	0	2	2	0	3	2	0	9	0	0	0	1	0	6	5	38			
CUADRANTE 2	4	1	0	1	2	0	4	0	0	1	0	3	5	0	0	0	0	1	1	26			

1,25E+12

Anexo 4. Tabla de conteo en cámara neubauer y cuenta colonias del grupo funcional actinomicetos

MEDIO DE CULTIVO	AGAR CASEINA																				
GRUPO FUNCIONAL	ACTINOMICETOS																				
VARIEDAD	CHOLA																				
ALTITUD	3800																				
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ																				
	SUEL COLONIAS		RAIZ COLONIAS																		
B1	82	B6	79																		
B2	247	B7	19																		
B3	86	B8	59																		
B4	280	B9	23																		
B5	143	B10	33																		
CAJA B1	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	FORMULA
CUADRANTE 1	1	0	0	0	0	0	0	0	6	1	1	0	0	1	0	3	0	0	0	14	1,02E+12
CUADRANTE 2	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	1	8	0	0	0	1	20	41	
CAJA B2	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	5	3	6	4	3	8	15	10	3	10	5	6	6	7	3	8	18	12	11	150	
CUADRANTE 2	6	5	4	10	9	18	20	13	11	5	16	17	16	3	9	11	5	10	25	225	
CAJA B3	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	0	1	0	2	0	0	0	3	6	9	1	6	21	6	0	0	3	7	2	67	
CUADRANTE 2	2	0	0	1	0	0	0	5	3	2	1	5	1	6	2	1	3	0	1	36	
CAJA B4	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		

CUADRANTE 1	10	20	9	14	12	34	11	5	20	14	10	30	33	29	10	8	2	13	18	309
CUADRANTE 2	20	44	20	45	19	10	2	11	14	8	20	10	14	7	17	13	5	15	17	322
CAJA B5	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	1	2	0	1	3	0	3	2	10	1	1	0	1	2	0	0	1	2	7	46
CUADRANTE 2	4	8	5	3	0	5	2	0	6	2	5	15	0	1	4	2	0	0	4	68

RAIZ

CAJA B6	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	FORMULA													
CUADRANTE 1	7	1	1	0	0	0	0	1	2	0	1	0	4	10	4	9	8	3	2	58	7,5E+11													
CUADRANTE 2	8	7	7	11	32	8	3	5	12	6	2	3	4	4	3	4	6	8	7	152		7,5E+11												
CAJA B7	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20				7,5E+11											
CUADRANTE 1	11	2	5	1	4	8	3	3	0	3	4	3	4	10	1	2	5	5	6	86				7,5E+11										
CUADRANTE 2	0	6	7	4	4	4	0	6	4	0	1	4	3	0	5	5	0	3	7	73					7,5E+11									
CAJA B8	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20							7,5E+11								
CUADRANTE 1	3	5	1	3	7	3	3	0	3	0	3	1	2	6	0	2	5	4	10	66							7,5E+11							
CUADRANTE 2	5	8	7	6	4	0	2	1	5	6	2	3	0	3	1	6	2	1	3	75								7,5E+11						
CAJA B9	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20										7,5E+11					
CUADRANTE 1	4	3	6	5	4	5	4	0	7	6	7	3	11	3	4	4	3	5	9	99										7,5E+11				
CUADRANTE 2	4	5	4	5	1	2	0	7	3	7	5	11	7	5	6	3	2	1	9	99											7,5E+11			
CAJA B10	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20													7,5E+11		
CUADRANTE 1	3	5	3	2	6	7	4	6	6	3	15	2	4	6	3	12	1	1	10	102													7,5E+11	
CUADRANTE 2	1	7	15	8	1	7	1	4	11	2	6	11	5	9	1	2	4	6	10	124														7,5E+11

Anexo 5. Tabla de conteo en cámara neubauer y cuenta colonias del grupo funcional bacterias solubilizadoras de fosforo.

GRUPO FUNCIONAL	BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFORO																				
VARIEDAD	CHOLA																				
ALTITUD	3800																				
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ																				
	SUELO COLONIAS		RAIZ COLONIAS																		
C1	171	C6	52																		
C2	140	C7	17																		
C3	123	C8	66																		
C4	80	C9	47																		
C5	161																				
CAJA C1	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	FORMULA
CUADRANTE 1	17	23	19	25	45	53	42	30	38	29	33	37	20	26	33	32	15	19	7	578	2,08E+12
CUADRANTE 2	32	22	38	19	20	24	28	20	24	18	30	14	15	24	6	34	17	20	17	448	
CAJA C2	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	5	4	7	10	11	17	19	17	22	8	17	12	13	22	11	14	14	24	11	269	
CUADRANTE 2	16	8	22	20	8	17	13	14	17	9	17	9	6	20	12	2	4	11	21	257	
CAJA C3	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	6	7	2	5	6	8	6	4	19	10	8	8	2	11	8	3	2	6	5	130	
CUADRANTE 2	4	13	2	13	13	16	15	14	7	16	10	5	5	14	11	10	14	18	15	229	
CAJA C4	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	8	5	9	6	5	6	6	7	18	5	8	20	12	9	7	4	12	6	5	169	

CUADRANTE 2	8	4	9	4	8	1	5	13	8	3	9	7	2	13	7	3	3	8	8	133
CAJA C5	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	4	7	4	5	6	11	9	13	6	8	15	18	8	12	13	10	13	4	16	191
CUADRANTE 2	10	9	4	16	14	10	3	11	11	14	4	7	8	12	6	9	12	13	15	200

RAIZ

CAJA C6	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	FORMULA
CUADRANTE 1	2	3	4	3	1	10	5	4	7	6	7	9	3	17	11	8	6	2	12	134	9,07E+11
CUADRANTE 2	4	5	7	5	5	2	3	7	6	5	4	1	2	5	4	7	9	3	5	105	
CAJA C7	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	3	5	6	9	21	10	9	6	17	6	10	11	8	14	10	12	18	6	14	204	
CUADRANTE 2	9	10	11	14	24	18	5	10	8	30	6	7	13	8	17	14	13	11	15	254	
CAJA C8	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	4	2	3	6	6	7	4	7	8	2	4	2	5	8	8	2	3	8	12	110	
CUADRANTE 2	6	4	1	6	6	8	9	0	7	5	11	4	3	6	9	11	7	11	13	134	
CAJA C9	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	3	4	2	0	5	5	8	4	6	6	5	6	3	4	8	8	6	5	3	91	
CUADRANTE 2	10	6	3	2	1	5	3	8	4	12	5	4	5	4	5	10	5	7	3	102	

Anexo 6. Tabla de conteo en cámara neubauer y cuenta colonias del grupo funcional pseudomonas.

MEDIO DE CULTIVO	B DE KING		
GRUPO FUNCIONAL	PSEUDOMONAS		
VARIEDAD	CHOLA		
ALTITUD	3800		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ		
	SUELO COLONIAS		RAIZ
D1	270	D6	60
D2	265	D7	42
D3	146	D8	146
D4	130	D9	17
D5	133	D10	35

CAJA D1	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	FORMULA
CUADRANTE 1	0	2	4	3	0	1	2	4	3	4	0	1	1	0	6	0	2	0	3	42	1,23E+12
CUADRANTE 2	11	0	0	3	4	0	4	4	1	5	0	0	1	3	0	5	3	1	1	54	
CAJA D2	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	1	3	2	0	2	0	2	0	2	4	1	0	0	0	4	0	2	0	1	24	
CUADRANTE 2	3	3	2	3	17	0	0	5	5	0	4	0	0	4	2	0	4	0	4	56	
CAJA D3	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	3	0	8	14	9	19	1	4	12	3	0	23	13	24	25	21	13	9	0	228	

CUADRANTE 2	2	0	5	10	30	37	29	14	15	19	18	23	16	32	6	5	0	15	4	314
CAJA D4	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	6	12	13	9	0	7	5	10	11	12	16	28	11	18	20	6	16	14	11	236
CUADRANTE 2	11	10	15	12	5	14	12	6	7	15	11	9	7	13	15	16	1	2	10	198
CAJA D5	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	6	11	8	0	2	14	7	4	12	0	14	12	11	10	1	10	20	0	14	160
CUADRANTE 2	24	12	10	9	9	11	14	22	0	7	8	14	6	13	9	11	7	8	13	220

RAIZ

CAJA D6	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA	FORMULA
CUADRANTE 1	0	0	0	2	1	1	0	0	5	4	3	0	2	0	0	0	3	0	0	21	5,59E+11
CUADRANTE 2	1	0	0	4	1	0	2	0	0	0	0	4	0	0	1	1	4	0	3	26	
CAJA D7	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	0	0	0	2	0	4	2	0	0	2	2	0	0	7	0	0	3	0	0	22	
CUADRANTE 2	0	0	0	0	1	0	0	0	2	5	3	2	0	6	2	0	0	6	3	32	
CAJA D8	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	6	4	3	9	9	1	3	10	8	4	0	7	14	0	0	15	9	6	15	133	
CUADRANTE 2	3	0	5	7	1	4	14	7	6	7	3	0	11	3	8	0	11	3	13	118	
CAJA D9	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	4	2	3	3	3	1	1	0	0	6	4	0	3	0	3	0	10	0	6	49	
CUADRANTE 2	1	3	8	3	2	0	5	0	4	0	7	4	0	3	2	4	4	0	5	65	
CAJA D10	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
CUADRANTE 1	4	2	5	4	1	11	6	4	8	3	4	2	7	8	3	10	8	3	2	96	
CUADRANTE 2	4	5	4	0	8	4	4	7	11	8	19	3	3	5	7	10	3	7	12	137	

Anexo 7. Tabla de conteo en cámara neubauer y cuenta colonias del grupo funcional fijadoras de nitrógeno.

MEDIO DE CULTIVO	WATANABE		
GRUPO FUNCIONAL	FIJADORAS DE NITROGENO		
VARIEDAD	CHOLA		
ALTITUD	3800		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ		
	SUELO COLONIAS		RAIZ
E1	122	E6	56
E2	9	E7	65
E3	47	E8	63
E4	16	E9	198
E5	55	E10	180

CAJA E1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA
CUADRANTE 1	3	10	14	5	7	8	7	6	7	4	0	6	4	0	18	1	6	5	4	1	116
CUADRANTE 2	5	1	4	6	10	14	10	8	3	13	12	7	5	10	5	3	0	10	3	8	137
CAJA E2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	4	2	3	4	10	2	1	3	1	2	0	1	3	0	3	1	3	0	4	3	50
CUADRANTE 2	30	0	6	1	9	1	2	0	1	1	3	3	0	0	3	3	4	2	0	3	72
CAJA E3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	

CUADRANTE 1	5	4	3	3	7	0	5	4	6	9	3	6	1	10	5	2	8	6	4	6	97
CUADRANTE 2	11	1	2	7	20	9	9	3	6	13	0	13	7	7	4	4	0	7	13	7	143
CAJA E4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	4	4	9	5	0	6	0	3	4	5	6	3	2	4	10	1	0	6	0	2	74
CUADRANTE 2	0	0	2	0	0	14	7	0	8	0	6	7	0	0	14	6	0	10	9	14	97
CAJA E5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	0	5	1	4	1	0	0	6	2	2	5	0	0	1	3	4	2	4	1	2	43
CUADRANTE 2	0	0	1	2	5	7	2	0	3	5	0	1	3	3	4	0	3	3	0	3	45
RAIZ																					
CAJA E6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	0	0	3	0	0	2	3	5	3	2	1	2	3	1	5	1	1	1	2	4	39
CUADRANTE 2	0	1	7	3	6	2	2	1	0	2	2	1	4	0	1	1	4	3	3	4	47
CAJA E7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	0	0	1	0	0	1	0	2	0	1	0	1	2	0	3	0	2	7	0	4	24
CUADRANTE 2	0	8	2	0	3	0	4	0	0	1	0	25	3	2	5	3	9	3	4	4	76
CAJA E8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	0	0	2	0	3	1	0	0	1	2	0	0	3	0	5	2	22	0	0	1	42
CUADRANTE 2	3	0	0	6	1	0	0	1	4	4	0	2	1	4	12	3	0	0	2	0	43
CAJA E9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	0	1	1	2	1	0	0	1	5	2	1	0	2	1	2	0	1	4	0	3	27
CUADRANTE 2	0	0	1	1	1	3	1	5	1	3	1	1	3	3	0	0	0	0	3	4	31
CAJA E10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	1	3	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	2	0	1	1	2	0	14
CUADRANTE 2	3	2	2	1	3	2	0	4	1	2	0	0	0	7	2	3	1	4	1	8	46

Anexo 8. Tabla de conteo en cámara neubauer y cuenta colonias del grupo funcional bacterias celulolíticas.

MEDIO DE CULTIVO	EXTRACTO DE SUELO		
GRUPO FUNCIONAL	BACTERIAS CELULOLITICAS		
VARIEDAD	CHOLA		
ALTITUD	3800		
TIPO DE MUESTRA	SOLUCION DE SUELO Y RAIZ		
	SUELO COLONIAS		RAIZ
F1	56	F6	30
F2	7	F7	30
F3	22	F8	158
F4	48	F9	76
F5	76	F10	21

CAJA F1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMATORIA
CUADRANTE 1	3	3	24	4	28	2	4	0	0	14	3	4	8	4	4	1	5	2	2	6	121
CUADRANTE 2	0	0	1	0	3	0	1	3	1	2	1	4	0	2	46	5	0	0	3	3	75
CAJA F2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	2	7	3	8	7	7	6	3	3	5	3	0	14	3	2	7	8	18	3	3	112
CUADRANTE 2	2	0	0	4	0	2	2	0	2	27	1	4	6	1	3	1	13	4	10	0	82
CAJA F3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	4	7	5	2	24	5	7	10	5	6	2	4	12	8	9	6	4	11	15	16	162

CUADRANTE 2	6	7	4	13	10	5	12	8	4	9	8	12	4	17	16	8	12	16	7	17	195
CAJA F4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	4	21	4	9	39	12	1	13	3	23	9	3	0	4	35	6	1	2	32	4	225
CUADRANTE 2	2	5	7	2	32	1	3	10	6	8	0	2	11	2	19	1	9	10	4	13	147
CAJA F5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	1	3	6	6	27	20	2	1	6	6	5	3	5	6	13	3	0	7	30	18	168
CUADRANTE 2	4	1	8	16	21	12	13	3	7	3	7	1	6	7	3	2	8	5	6	5	138
RAIZ																					SUMATORIA
CAJA F6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	1	3	0	0	1	2	1	1	2	3	0	1	0	0	4	0	0	2	0	1	22
CUADRANTE 2	1	1	0	0	1	0	0	1	3	0	0	0	1	2	1	2	0	0	0	3	16
CAJA F7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	0	2	0	0	1	0	0	1	3	3	3	0	2	2	5	1	1	0	6	3	33
CUADRANTE 2	0	3	1	7	8	2	2	4	0	1	0	0	0	0	1	1	1	7	4	4	46
CAJA F8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	0	2	3	0	1	6	1	1	0	1	4	0	3	2	6	3	1	0	0	1	35
CUADRANTE 2	0	0	0	1	3	6	2	0	0	1	1	0	8	0	4	1	2	1	6	2	38
CAJA F9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	3	3	1	0	7	0	0	0	0	8	1	4	6	0	5	13	0	3	0	5	59
CUADRANTE 2	0	1	4	7	9	8	7	7	5	10	4	2	2	0	3	3	4	5	5	4	90
CAJA F10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
CUADRANTE 1	0	3	5	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	4	2	0	0	2	3	24
CUADRANTE 2	0	0	2	6	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2	3	0	0	0	9	6	30

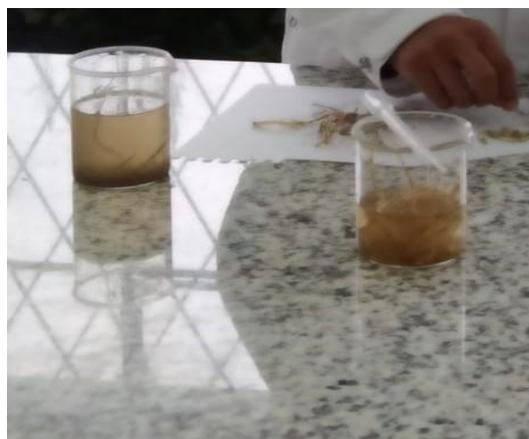
Anexo 9. Recolección de muestras de la rizosfera de la papa.



Anexo 10. Preparación de medios de cultivo para los siete grupos funcionales



Anexo 11. Tamización de raíz para siembra en medios de cultivos



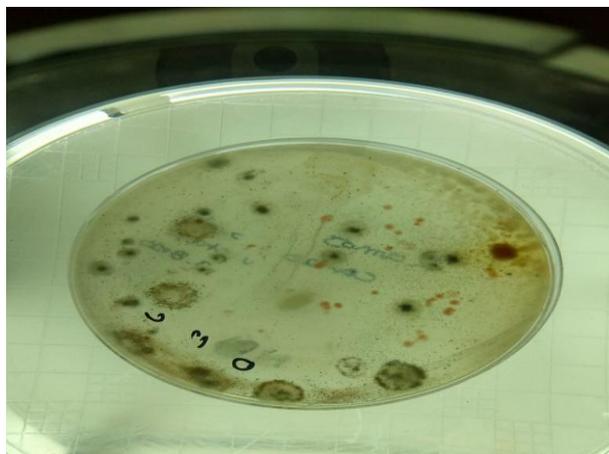
Anexo 12. Disoluciones para muestra de suelo



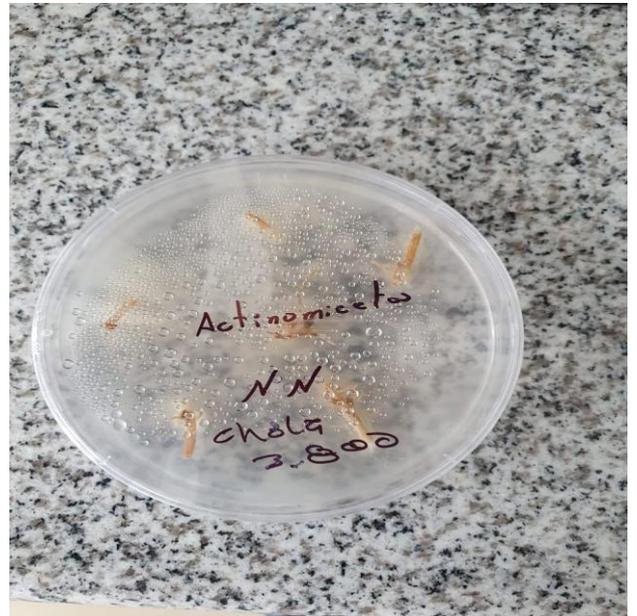
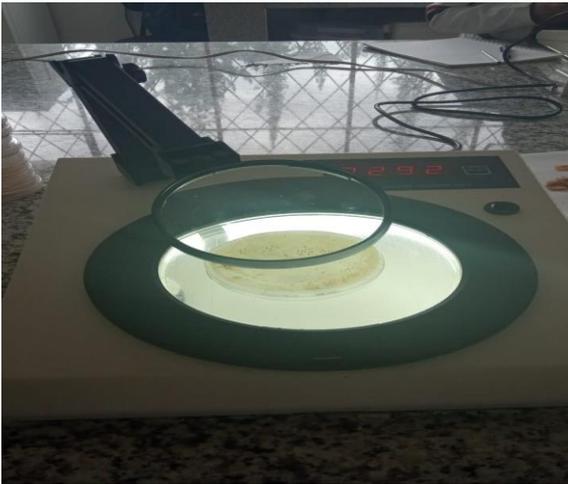
Anexo 13. Reposo en estufa para el crecimiento de bacterias y hongos.



Anexo 14. Verificación de aparición de hongos y bacterias.



Anexo 15. Conteo de conidios en cámara Neubauer



Anexo 16. Análisis de suelo



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



INFORME DE ENSAYO No: 21-0536

NOMBRE DEL CLIENTE: Chasi Vizúete Wilman Paolo
PETICIONARIO: Natalia Nasimba
EMPRESA/INSTITUCIÓN: Natalia Nasimba
DIRECCIÓN: Pujilí

FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRA: 22/06/2021
HORA DE RECEPCIÓN DE MUESTRA: 15:30
FECHA DE ANÁLISIS: 05/07/2021
FECHA DE EMISIÓN: 09/07/2021
ANÁLISIS SOLICITADO: S4

Análisis	PH		N		P		S		B		K		Ca		Mg		Zn		Cu		Fe		Mn		Ca/Mg	Mg/K	Ca+Mg/K	Σ Bases meq/ 100g	MO %	CO.* %	Textura (%)			Clase Textural	IDENTIFICACIÓN
			ppm	M	ppm	A	ppm	M	ppm	M	ppm	M	ppm	M	ppm	M	ppm	M	ppm	M	Arena	Limo	Arcilla												
21-2071	5,88	Me AC	48	M	52	A	16	M	0,46	B	0,25	M	12,80	A	2,23	A	7,2	A	7,2	A	364	A	12,1	M	5,75	8,91	60,13	15,28	13	A	43	42	15	FRANCO	Lote Nasimba

Análisis	Al+H*	Al*	Na *	C.E. *	N. Total*	N-NO3	K H2O*	P H2O*	Cl*	PH2O*	IDENTIFICACIÓN
Unidad	meq/100g			dS/m	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	

OBSERVACIONES:

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

* Ensayos no solicitados por el cliente

INTERPRETACION		
pH	Elemento	
Ao = Acido	N = Neutro	B = Bajo
Lao = Liger. Acido	LAI = Lige. Alcalino	M = Medio
PN = Prac. Neutro	AI = Alcalino	A = Alto
RC = Requieren Cal	T = Tóxico (Boro)	

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

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

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



El modo a leerlo consiste por:
JOSE ALONSO
LUCERO
MALATAY

LABORATORISTA



El modo a leerlo consiste por:
IVAN RODRIGO
SAMANIEGO
MAIGUA

RESPONSABLE DE LABORATORIO

Anexo 17. Cronograma

ACTIVIDADES	ABRIL				MAYO				JUNIO				JULIO				AGOSTO			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Desarrollo del plan de investigación	■	■	■	■																
Revisión bibliográfica	■	■	■	■	■															
Georeferenciación y análisis microbiológico							■													
Recolección de muestras en cada localidad							■													
Preparación de los medios de cultivos, e identificación de cajas Petri de acuerdo a los tratamientos y repeticiones	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■										
Siembra de muestras													■	■	■	■	■	■		
Recolección de datos obtenidos en el experimento													■	■	■					
Análisis de datos y discusiones																	■	■		
Defensa																			■	

Fuente: Cruz, Chiquimba, Nasimba, Ortiz. 2021

Anexo 18. Avala de ingles



CENTRO
DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

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

La traducción del resumen del proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por el NASIMBA CHANATAXI NATHALIA BELEN, de la Carrera de INGENIERÍA AGRONÓMICA de la FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES, cuyo título versa "ANÁLISIS DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*). VAR. SUPER CHOLA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm, COTOPAXI, 2021.", lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente certificado de la manera ética que estime conveniente.

Latacunga, agosto del 2021

Atentamente.

Mg. Diana Karina Taípe Vergara
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 1720080934



MARCO PAUL
BELTRAN
SEMILANTES



CENTRO
DE IDIOMAS