



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

**Título:**

---

**IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE LA CAPTURA EN DOS  
TERRAZAS AGRÍCOLAS EN EL CAMPUS SALACHE, LATACUNGA, COTOPAXI**

---

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

**Autor:**

Sánchez Riofrio Christian David

**Tutora:**

Tapia Borja Alexandra Isabel, Ing. Mg.

**Latacunga – Ecuador**

**Agosto 2022**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

**Sánchez Riofrio Christian David**, con cédula de ciudadanía No. **180409125-2** declaro ser autora del presente proyecto de investigación: **“IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE LA CAPTURA EN DOS TERRAZAS AGRÍCOLAS EN EL CAMPUS SALACHE, LATACUNGA, COTOPAXI”**, siendo la Ing. Mg. Alexandra Isabel Tapia Borja tutora 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, 24 de Agosto del 2022

Sánchez Riofrio Christian David

Estudiante

C.C: 1804091252

Ing. Alexandra Isabel Tapia Borja, Mg.

Docente Tutora

C.C: 0502661754

## 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 **SÁNCHEZ RIOFRIO CHRISTIAN DAVID**, identificado con cédula de ciudadanía **180409125-2** de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero PhD. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.- EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Agronómica, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE LA CAPTURA EN DOS TERRAZAS AGRÍCOLAS EN EL CAMPUS SALACHE, LATACUNGA, COTOPAXI**”, 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 2017 – Agosto 2017

Finalización: Abril 2022- Agosto 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 3 de Junio del 2022

Tutor: Ing. Mg. Alexandra Isabel Tapia Borja

Tema: “**IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE LA CAPTURA EN DOS TERRAZAS AGRÍCOLAS EN EL CAMPUS SALACHE, LATACUNGA, COTOPAXI**”.

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

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

**CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **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.

f) 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 obligado a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

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

**CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.** - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **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 cláusulas cuartas, 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 31 días del mes de agosto de 2022.

Christian David Sánchez Riofrio

Ing. Cristian Tinajero Jiménez, Ph.D.

**EL CEDENTE**

**LA CESIONARIA**

## **AVAL LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

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

“IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE LA CAPTURA EN DOS TERRAZAS AGRÍCOLAS EN EL CAMPUS SALACHE, LATACUNGA, COTOPAXI”, de Sánchez Riofrio Christian David, 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, 31 de agosto 2022

Ing. Alexandra Isabel Tapia Borja, Mg.

**DOCENTE TUTORA**

CC: 0502661754

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

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el postulante: Sánchez Riofrio Christian David con el título de Proyecto de Investigación: “IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE LA CAPTURA EN DOS TERRAZAS AGRÍCOLAS EN EL CAMPUS SALACHE, LATACUNGA, **COTOPAXI**”, 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, 31 de agosto del 2022

Lector 1 (Presidente)

Ing. Edwin Marcelo Chancusig Espín, Mg. PhD.

CC: 0501148837

Lector 2

Ing. Wilman Paolo Chasi Vizuete, Mg.

CC: 0502409725

Lector 3

Ing. Mercy Lucila Ilbay Yupa, Mg. PhD.

CC: 0604147900

## **AGRADECIMIENTO**

En la presente investigación quiero agradecerle primeramente a Dios por darme vida, salud y fuerzas para dar lo mejor de mi día tras día durante mi vida estudiantil.

A mi madre que, con sus esfuerzos impresionantes y su amor invaluable, me ha educado y me ha proporcionado cada cosa que he necesitado además de sus enseñanzas que las aplico día tras día, su ayuda fue fundamental para la culminación de mi tesis.

A mis familiares, amigos y personas especiales en mi vida, por tener la confianza puesta en mi persona, especialmente aquellos que estuvieron brindándome el apoyo desde mis inicios, este nuevo logro es gran parte gracias a ellos ya que he logrado concluir con éxito un proyecto que en un principio podría parecer tarea táctica e interminable.

Quedo eternamente agradecido con mi grupo de trabajo, a mi tutora Alexandra Tapia con la cual se desarrolló este proyecto, además de contar con su apoyo me ha guiado y me ha brindado ideas que motivaron la investigación; gracias por su confianza.

Christian David Sánchez Riofrio

## **DEDICATORIA**

Esta investigación la dedico a Dios porque gracias a él he logrado cumplir muchos de mis sueños.

Dedico mi tesis con todo mi corazón a mi madre, pues sin ella no lo habría logrado. Tu bendición a lo largo de la vida me protege y me lleva por el camino del bien. Por eso te doy mi trabajo en ofrenda por tu paciencia y amor.

Además se la dedico especialmente a todas las personas que me ayudaron a seguir desarrollando este proyecto y me brindaron palabras de aliento para no darme por vencido, colegas que sin esperar nada a cambio compartieron sus conocimientos alegrías y tristezas estuvieron en cada paso de mi vida para que este sueño se haga realidad. Espero contar siempre con su valioso e incondicional apoyo.

Christian David Sánchez Riofrio



## **UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**

### **FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**TÍTULO:** “IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE LA CAPTURA EN DOS TERRAZAS AGRÍCOLAS EN EL CAMPUS SALACHE, LATACUNGA, COTOPAXI”

**AUTOR:** Sánchez Riofrio Christian David

#### **RESUMEN**

La presente investigación se realizó en la Universidad Técnica de Cotopaxi sector Salache a una altura de 2747 m.s.n.m con 78° 37'28" de longitud oeste y 0° 59' 60" de latitud sur con el objetivo de identificar microorganismos mediante la captura en dos terrazas agrícolas. Se aplicó una hipótesis estadística para evaluar medias mediante una prueba T y realizar una comparación de dos terrazas de banco en la cual se determina si existe diferencia significativa. Para evaluar estadísticamente los datos obtenidos en el experimento, se realizó una cuantificación de hongos y bacterias del suelo posteriormente se empleó una prueba T y la relación de fuentes de varianza significativa. La investigación expresó los siguientes resultados: la terraza agrícola número ocho tuvo mayor significancia, ya que produjeron los mejores resultados de colonización de microorganismos en base a *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Botrytis* obteniendo porcentajes de colonización del 77,93% en la terraza agrícola ocho y con 60,18% para la terraza siete con lo que respecta a hongos con medios de cultivo agar de papa dextrosa (PDA), siendo así también con un alto porcentaje de colonización para bacterias localizadas los géneros *Bacillus*, *Micrococcus* y *Clostridium* del 171, 18% para la terraza agrícola número ocho y 130,31% para la terraza agrícola siete con medios de cultivo agar plate count (PCA).

**Palabras claves:** microorganismos, comparación, identificación.

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI**  
**FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES**

**THEME: "IDENTIFICATION OF MICROORGANISMS THROUGH CAPTURE IN TWO AGRICULTURAL TERRACES IN CAMPUS SALACHE, LATACUNGA, COTOPAXI"**

AUTHOR: Sánchez Riofrio Christian David

**ABSTRACT**

The current research was made at the Cotopaxi Technical University, Salache sector, at a 2747 height m.a.s.l. with 78° 37'28" west longitude and 0° 59' 60" south latitude, with the aim at identifying microorganisms by capturing on two agricultural terraces. It was applied a statistically hypothesis to assess means, through a T test and to make a comparison two bench terraces, which it is determined, if there is a significant difference. To statistically assess the got data in the experiment, it was made a soil fungi and bacteria quantification, subsequently, it was used a T test and the significant variance sources relationship. The research expressed the following results: the agricultural terrace number eight had greater significance, since they produced the microorganisms colonization best results based on Trichoderma, Aspergillus, Beauveria, Alternaria, Fusarium and Botrytis, getting 77.93% colonization percentages in to agricultural terrace eight and with 60.18% for the terrace seven with regard to fungi with media crop agar (PDA) of potato dextrose, thus also, having a colonization high percentage of the localized bacteria from genera Bacillus, Micrococcus and Clostridium of 171, 18% for agricultural terrace number eight and 130.31% for agricultural terrace seven with media crop agar (PCA) plate count.

**Keywords:** microorganisms, comparison, identification.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA	viii
ABSTRACT	x
ÍNDICE DE CONTENIDOS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xv
ÍNDICE DE FIGURAS	xvi
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	4
4.1. Beneficiarios directos	4
4.2. Beneficiarios indirectos	4
5. PROBLEMÁTICA	4
6. OBJETIVOS	7
6.1. Objetivo General:	7
6.2. Objetivos Específicos:	7
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN CON LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.	7
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA	9
8.1. Agricultura orgánica	9
8.2. Ventajas de la agricultura orgánica	9

8.3	Suelo	10
8.4	Microorganismos del suelo	10
8.5	Clasificación de los microorganismos	11
8.6	Bacterias	11
8.7	Actinomicetes	12
8.8	Cianofíceas	12
8.9	Algas	12
8.10	Hongos	13
	Trichoderma spp	13
	Beauveria Bassiana	14
	Fusarium sp	14
8.11	Virus	15
8.12	Protozoarios	16
8.13	Aplicaciones de Microorganismos Eficientes	16
8.14	Uso de los microorganismos en la agricultura	17
	8.14.1 En semilleros	17
	8.14.2 En las plantas	17
	8.14.3 En los suelos	18
8.15	Condiciones ideales para el uso de microorganismos eficientes	18
8.16	Trampas de arroz para la identificación de microorganismos.	19
8.17	Muestras de suelo para la cuantificación de microorganismos.	19
8.18	Agar para Métodos Estándar (PCA)	19
8.19	PDA (Potato Dextrose Agar)	20
8.20	Tinción de Gram	21
8.21	Fórmulas:	21
9.	MARCO LEGAL	22
10.	HIPÓTESIS	23

10.1	Hipótesis Alternativa	23
10.2	Hipótesis Nula	23
11.	MARCO METODOLÓGICO	23
11.1	Ubicación del área de estudio	23
11.2	Materiales	24
a.	Equipos	24
b.	Materiales de campo	24
c.	Materiales para la preparación de las trampas	25
11.3	Métodos	25
a.	Inductivo	25
Observación		25
Experimentación		25
Comparación		25
b.	Deductivo	25
Demostración		25
c.	Técnicas	26
11.4	Características climatológicas del lugar de la investigación	26
11.5	Factores en estudio	26
a.	Conteo de microorganismos (hongos y bacterias)	26
b.	Sectores agrícolas	26
11.6	Características de la parcela	27
11.7	Variable en Estudio	28
a.	Variable independiente	28
b.	Variable Dependiente	28
c.	Indicadores	28
11.8	Datos registrados durante el proceso de investigación	28
a.	Porcentaje de colonización de microorganismos benéficos	28

11.9	Operación de variables	28
11.10	Manejo del Ensayo	29
a.	Procedimiento de la elaboración de trampas de arroz posterior a su implementación en campo.	29
11.11	Registro de Datos	30
11.12	Aislamiento e identificación de hongos en un medio de cultivo PDA	30
11.13	Colonización de hongos y bacterias	30
11.14	Tinción de Gram	31
12.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
12.1	Identificación de microorganismos	33
12.2	Tinción de Gram Para Identificación De Bacterias	38
12.3	Prueba T de Student para medias de dos muestras emparejadas en hongos y bacterias	39
13.	CONCLUSIONES	44
14.	RECOMENDACIONES	44
15.	BIBLIOGRAFÍA	44
	ANEXOS	50

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Coordenadas del lugar de estudio.	24
Tabla 2: Caracterización de las parcelas para la implementación de un diseño experimental en la terraza 7.	27
Tabla 3: Caracterización de las parcelas para la implementación de un diseño experimental en la terraza 8.	27
Tabla 4: Operación de variables para la implementación de trampas de arroz en dos sistemas agrícolas.	28
Tabla 5: tabla de datos en una prueba t para medias de dos muestras emparejadas en medios de cultivo agar PDA para hongos.	40
Tabla 6: tabla de datos en una prueba t para medias de dos muestras emparejadas en medios de cultivo agar PCA para bacterias	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: A) Hifas y conidióforos de <i>Trichoderma</i> B) Esquema de conidióforo de <i>Trichoderma</i> .	34
Figura 2: A) Hifas y conidióforos de <i>Beauveria</i> B) Esquema de conidióforo de <i>Beauveria</i> .	34
Figura 3: A) Hifas y conidióforos de <i>Aspergillus</i> B) Esquema de conidióforo de <i>Aspergillus</i> .	35
Figura 4: A) Conidios del género <i>Alternaria</i> B) Esquema de conidios de género <i>Alternaria</i> .	36
Figura 5: A) Macroconidias y esporodoquia de <i>Fusarium</i> B) Esquema morfológico del género <i>Fusarium</i> .	37
Figura 6: A) Conidióforos de <i>Botrytis</i> B) Esquema de conidióforo de <i>Botrytis</i> .	37
Figura 7: A) Vista microscópica de <i>Clostridium</i> . B) forma del género de la bacteria <i>Clostridium</i> .	38
Figura 8: A) Vista microscópica de <i>Bacillus</i> . B) forma del género de la bacteria <i>Bacillus</i> .	39
Figura 9: Medias de la variable porcentaje de poblacional de microorganismos <i>Aspergillus</i> en las dosis en la terraza de banco número 7.	41
Figura 10: Medias de la variable porcentaje de poblacional de microorganismos <i>Aspergillus</i> en las dosis en la terraza de banco número 7.	43



## CAPÍTULO I

### 1. INFORMACIÓN GENERAL

**Título:** “IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS MEDIANTE LA CAPTURA EN DOS TERRAZAS AGRÍCOLAS EN EL CAMPUS SALACHE, LATACUNGA, COTOPAXI”

**Fecha de inicio:**

Abril del 2022

**Fecha de finalización:**

Agosto del 2022

**Lugar de ejecución.**

Facultad CAREN- Sector Salache- Cantón Latacunga- Provincia de Cotopaxi

**Facultad que auspicia.**

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

**Carrera que Auspicia:**

Carrera de Ingeniería Agronómica

**Proyecto de Investigación vinculado.**

Bioinsumos

**Equipo de trabajo**

Tutor: Tapia Borja Alexandra Isabel Ing. Mg.

Autor: Sánchez Riofrio Christian David

Lector A: Ing. Mg. PhD. Chancusig Espín Edwin Marcelo

Lector B: Ing. Mg. Chasi Vizuete Wilman Paolo

Lector C: Ing. Mg. PhD. Ilbay Yupa Mercy Lucila

**Área de conocimiento.**

Agricultura- Agricultura, Silvicultura y Pesca – Agricultura

**Línea de investigación:**

Desarrollo y seguridad alimentaria.

Gestión de recursos naturales biotecnología y gestión para el desarrollo humano y social

**Sub Línea de investigación de la Carrera:**

Energías alternativas y renovables, eficiencia energética y protección ambiental.

**Línea de vinculación:**

Desarrollo y seguridad alimentaria.

Gestión de recursos naturales biotecnología y gestión para el desarrollo humano y social

**2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO**

La presente investigación se elaboró en las terrazas de banco número 7 y 8 del Campus Salache de la Universidad Técnica de Cotopaxi ubicado en el cantón Latacunga, con el propósito de identificar microorganismos mediante la captura en dos sistemas agrícolas. Para la ejecución de este proyecto se tomó en cuenta la relación o grado de asociación entre variables independientes, la investigación tuvo como finalidad identificar microorganismos mediante su captura, como *Fusarium*, *Botrytis*, *Alternaria*, *Beauveria bassiana*, *Trichoderma* ssp, *Aspergillus* ssp, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Serratia*, esto se logró con la ayuda de las trampas de arroz aplicadas con melaza mediante una correcta aplicación, una vez colocada las trampas en sus diferentes sitios transcurrió 8 días estas fueron recogidas y se realizó la identificación mediante procesos de cultivo en el laboratorio para este transcurso se utilizó agar nutritivo y agar PDA. Mediante la utilización de agar nutritivo PCA y PDA se realizó un medio de cultivo con disoluciones de muestras de suelo (32 muestras) obtenidas de las terrazas 7 y 8 que nos permitió obtener el número de colonias de microorganismos en las dos terrazas en la cual se obtuvo grandes diferencias debido a que la materia orgánica no es la misma en las dos terrazas.

Los datos obtenidos de la cuantificación de hongos y bacterias fueron analizados con la prueba "**T**" de **Student** para determinar si hay una diferencia significativa entre las medias de los dos grupos.

**3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO**

La presente investigación demuestra que existen diferentes prácticas agrícolas, como la desinfección de suelos o la aplicación de biocidas, estos acaban con las colonias de

microorganismos, dejando un suelo empobrecido y un sistema radicular débil y poco desarrollado, esto se traduce en un menor desarrollo de la planta, menor producción y peor calidad de los cultivos a más de eso los agricultores se vuelven dependientes a los agroquímicos.

A su vez nos encontramos con suelos pobres y poco fértiles, esto ocurre, en gran parte, porque apenas existen colonias de microorganismos. Por ello, si desinfectamos el suelo, debemos colonizarlo y si lo destruimos, debemos regenerarlo y revitalizarlo por medio de este proyecto podemos conocer la diversidad de los suelos y a su vez utilizar los microorganismos con productos orgánicos como bioles o para acelerar la descomposición de compost etc. Los efectos de los microorganismos en el suelo, permanecen enmarcados en el mejoramiento de las propiedades físicas, químicas, biológicas y eliminación de patologías.

En el Ecuador, cada vez se habla con más insistencia sobre los inconvenientes que nace en el área agrícola como es el precipitado deterioro del suelo que conduce a un proceso de infertilidad seguido de una creciente complejidad para renovarlo, que también conlleva la pérdida microbiológica del suelo los cuales son un ente primordial en la igualdad y nutrición del mismo. La diversificación biológica resultante de los sistemas orgánicos se incrementa la igualdad del ecosistema agrícola y ofrece custodia contra la tensión ambiental, lo cual paralelamente se incrementa la función de recuperación del recurso suelo degradado.

En tal sentido, una opción para mejorar la fertilidad de los suelos tienen la posibilidad de ser los Microorganismo Eficientes, los mismos que son un cultivo microbiano mixto, de especies seleccionadas de microorganismos benéficos, que inoculados al suelo contribuyen a restaurar la igualdad microbiano, frecuentemente deteriorado por las malas prácticas de desempeño agronómico; dichos paralelamente contribuyen a agilizar la descomposición de los desperdicios orgánicos en el suelo, lo que aumenta además la disponibilidad de nutrientes para las plantas.

Debido a esto los agricultores podrían beneficiarse al encontrar en los microorganismos eficientes numerosas aplicaciones agrícolas debido a que funcionalmente favorecen la germinación de semillas, incrementan la floración, aumentan el crecimiento y desarrollo de los frutos, incrementan la biomasa, garantizan una reproducción exitosa en las plantas, mejoran la estructura física de los suelos, incrementan la fertilidad química de los mismos y suprimen a varios agentes fitopatógenos causantes de enfermedades.

El exceso de plaguicidas en la agricultura ocasiona un gran daño al medio ambiente a la salud de las personas, al consumir el alimento con alto contenido de químicos por lo que surgió este proyecto de La agricultura orgánica el cual constituye una parte importante del sector agrícola por sus ventajas ambientales y económicas, lo cual nos lleva a pensar que día a día más personas se dan cuenta de lo importante que es consumir alimentos sanos, libres de residuos que la agricultura convencional no les proporciona.

De igual manera los agricultores ven que en un corto plazo sus sistemas tradicionales de cultivo serán cada vez menos sostenibles debido a su alta dependencia de insumos, por lo que la agricultura orgánica se presenta como una opción interesante, sin embargo, es fundamental una adecuada fertilidad del suelo para asegurar una producción de calidad.

Según los inconvenientes que inciden, nace la necesidad de fomentar y llevar a cabo novedosas prácticas y tácticas referentes a técnicas de cultivo sustentables, un modo innovador es la utilización de microorganismos eficientes en abonos orgánicos, dichos ayudarán a optimizar su potencial nutricional, a restituir la estabilidad del suelo, promover la inmediata descomposición de los desperdicios orgánicos actuando como biofertilizantes, eliminando macro y microorganismos. De ahí la importancia de aislar e identificar microorganismos benéficos en dos sistemas agrícolas en el Campus Salache.

#### **4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO**

##### **4.1. Beneficiarios directos**

Docentes y Estudiantes de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Cotopaxi y sectores priorizados.

##### **4.2. Beneficiarios indirectos**

Personal de los sectores agrícolas.

#### **5. PROBLEMÁTICA**

El mundo de la agricultura se ve afectada debido al uso indebido de la mecanización agrícola, y de los agroquímicos, entre ellos tenemos plaguicidas y los propios fertilizantes químicos sintéticos, ocasionando impactos negativos en el suelo de cultivo donde existe mayor problema de erosión, además del desgaste físicos pérdida de la base nutricional y húmica,

como la actividad microbiana, comprometiendo su fertilidad y productividad, en detrimento de la seguridad y soberanía agroalimentaria.

En el Ecuador entre las causas más frecuentes de las pérdidas económicas en el sector agrícola, se encuentran las enfermedades de origen bacteriano y fúngico del suelo. En un intento por dar solución, los agricultores (sin tener un adecuado conocimiento de los microorganismos nocivos o benéficos existentes), han usado pesticidas y biocidas, los cuales producen desbalances en el suelo y otras consecuencias dentro de la biodiversidad natural de los cultivos. La posibilidad de evaluar la salud de un suelo a través de su riqueza y variedad de microorganismos es factible, pero se puede constatar que las técnicas moleculares en Ecuador están en pleno desarrollo y todavía no es posible obtener resultados cuantitativos y cualitativos. Actualmente, existen pocos institutos que se dedican a la identificación de microorganismos. Uno de ellos es el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias del Ecuador (INIAP), el cual emplea técnicas morfológicas para la identificación de bacterias en la parte aérea y de suelo.

Las regiones secas de nuestro país son de enorme relevancia para la conservación y el mantenimiento de la base natural y los procesos biológicos que muestran, además constan de un enorme conjunto de especies y microorganismos son catalogados como únicos por su capacidad de habituación a las condiciones climáticas adversas que ahí suceden. Por estas causas, es fundamental conservar y mantener estas regiones o empezar procesos de recuperación de la cobertura natural de las regiones enormemente degradadas.

Los efectos negativos que afectan al suelo para todo tipo de cultivo según (Gómez, 2019) se acentúa en la sierra ecuatoriana debido a múltiples factores adversos como el minifundio, nivel de pendiente, la dependencia total o parcial de insumos cambio de sistema de producción de cultivos asociados a monocultivos, reducción de las especies cultivadas y deficientes prácticas de conservación de suelos y por último la falta de políticas e incentivos para la conservación del ambiente, afectando gravemente a que los cultivos puedan desarrollarse. Las prácticas de monocultivo utilizadas en la mayoría de zonas agrícolas ocasionan serios daños en el suelo donde principalmente se disminuye la diversidad de la flora microbiana; además el uso de fertilizantes químicos no solo contamina el suelo sino también disminuye la actividad metabólica de los microorganismos nativos. En el Ecuador la intervención ha ocasionado este tipo de efectos negativos, por eso se ha comenzado a implementar sistemas agroforestales los cuales promueven la siembra de policultivos la

utilización de abonos orgánicos que contribuyen a la recuperación de suelos como su conservación. En el país, en el 2020, más del 79% del área utilizada para cultivos transitorios empleó insumos químicos para la producción. En relación a los costos en que incurrieron los campesinos y conforme con la encuesta de FIAN Ecuador, el 41% de quienes generan arroz, refiere que los costos en agrotóxicos permanecen en el rango entre 20% y 40% del precio total de producción. Un 10% de encuestados, sugiere que el gasto podría conseguir hasta el 60%.

Los microorganismos eficaces comerciales tienen costos elevados, es por ello que se fomenta el uso de microorganismos eficaces naturales como una buena práctica ambiental en la producción de abono bocashi debido al bajo costo que presentan, en el Ecuador el aprovechamiento de dichos microorganismos es precario debido a la carencia de investigaciones. La falta de conocimiento por parte de los pobladores de la provincia de Cotopaxi hace que la productividad agrícola se implemente solo con insumos agrícolas por tanto es primordial establecer y fomentar el estudio y aplicación de microorganismos eficaces naturales en el proceso de producción de abono y se utilice en la agricultura como base fundamental en el cuidado de los cultivos, suelo y salud (Casa & Clavijo, 2018).

El microbiota del suelo cumple un papel muy importante en el mantenimiento de la fertilidad y productividad del mismo, los microorganismos son los encargados de la disponibilidad, retención de nutrientes al igual que de los procesos de descomposición de materia orgánica. Conjuntamente, los microorganismos hacen parte de los atributos biológicos del suelo, los cuales son altamente sensibles a los cambios en las condiciones que se presenten, ayudando también a determinar el efecto del manejo de su sostenibilidad; por ello al evaluar una comunidad microbiana como los actinomicetos se puede monitorear el estado de un suelo determinado.

Las consecuencias ecológicas de la pérdida de biodiversidad han despertado considerable interés y controversia durante la última década. Se han logrado importantes avances en la descripción de la relación entre la diversidad de especies, los procesos de los ecosistemas, en la identificación de especies funcionalmente importantes y en la revelación de los mecanismos subyacentes. Sin embargo, existe incertidumbre sobre cómo los resultados obtenidos en experimentos recientes se amplían a niveles regionales, de paisaje, se generalizan a través de tipos y procesos de ecosistemas. Probablemente se necesite un mayor número de especies para reducir la variabilidad temporal en los procesos de los ecosistemas

en entornos cambiantes. Un importante desafío futuro es determinar cómo interactúan la dinámica de la biodiversidad, los procesos de los ecosistemas y los factores abióticos (Vega Acosta & Díaz, 2016).

## 6. OBJETIVOS

### 6.1 Objetivo General:

- Identificar microorganismos mediante la captura en dos terrazas agrícolas en el campus Salache.

### 6.2 Objetivos Específicos:

- Establecer el número de colonia de microorganismos identificados en dos terrazas agrícolas 7 y 8.
- Determinar si existe variación significativa de la población de microorganismos en dos terrazas agrícolas 7 y 8.

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

OBJETIVO	ACTIVIDAD	RESULTADO	MEDIO DE VERIFICACIÓN
Establecer el número de colonia de microorganismos identificados en dos terrazas agrícolas 7 y 8.	Identificar microorganismos mediante la captura. Se realizó un medio de cultivo con PDA y PCA. Disolución de suelos para cuantificación de microorganismos.	Disponer de la información actual del área de cada una de las terrazas para la debida captura de microorganismos. Elaboración de trampas de arroz para la debida	Fotografías Matrices Facturas

	Siembra de microorganismos. Recopilación de datos.	captura de microorganismos. Captura de microorganismos a los 8 días. Microorganismos identificados. Captura de microorganismos a los 8 días.	
Determinar si existe variación significativa de la población de microorganismos en dos terrazas agrícolas 7 y 8.	Determinar mediante una prueba T de Student si existe significancia en la variación de microorganismos. Creación de matrices para la tabulación de los datos.	Porcentaje de invasión de microorganismos. Comparación de dos terrazas agrícolas.	Fotografías Matrices

**Fuente:** (Sánchez, 2022)



## CAPITULO II

### 8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA

#### 8.1 Agricultura orgánica

Los crecientes niveles de deterioro de los ecosistemas han obligado a la sociedad a buscar alternativas de producción más amigables con el medioambiente. La producción silvoagropecuaria, no ajena a este problema global, ha generado alternativas sustentables y ecológicas, destacando la Agricultura Orgánica con un creciente desarrollo, tanto en el ámbito nacional como mundial.(Servicio Agrícola Ganadero (SAG), 2021)

#### 8.2 Ventajas de la agricultura orgánica

Una de las ventajas de la Agricultura Orgánica de mayor importancia es la posibilidad cierta de elevar el potencial productivo de los suelos, generando condiciones para una mayor actividad biológica, mejorando su estructura y perfil químico, además de contribuir a la disminución que conlleva a su erosión. Además, existe un enriquecimiento genético donde interactúan distintas especies animales y vegetales, lo que logra un equilibrio ecológico que permite disminuir el ataque de plagas y enfermedades. Por otra parte, los productos agrícolas presentan mejor post cosecha y algunos estudios demuestran que tienen mejor calidad nutricional.(Servicio Agrícola Ganadero (SAG), 2021)

Desde el punto de vista económico, este sistema de producción, presenta como principales ventajas; el mejor precio que se obtiene en el mercado, lo cual sumado a que en ocasiones se puede tener un menor costo del manejo productivo, logrando una mayor rentabilidad. Además, el valor del predio aumenta en la medida que se van mejorando y recuperando sus recursos naturales (suelo, biodiversidad, entre otros)

Es posible desarrollar una Agricultura Orgánica destinada a satisfacer la demanda para la producción comercial como para el autoconsumo, así como para diferentes tamaños de explotación, esto conlleva a una disposición de productos más saludables, tanto para el trabajador como para el consumidor. Socialmente favorece una menor dependencia de los agricultores del mercado de los insumos.(Servicio Agrícola Ganadero (SAG), 2021). En general la Agricultura Orgánica favorece el desarrollo de los agroecosistemas, lo cual implica una serie de ventajas medioambientales, tales como, el aumento de la biodiversidad que la da

estabilidad al sistema, el equilibrio de los distintos elementos que los componen, el uso eficiente de los recursos, la mantención de la fauna y flora, el estímulo al reciclaje, la protección de las agua subterráneas, dentro de los más importantes.(Servicio Agrícola Ganadero (SAG), 2021)

Finalmente, cabe mencionar que la Agricultura Orgánica también puede aportar al fortalecimiento de la cultura del mundo rural, ya que recupera el conocimiento ancestral, rescata y genera identidad a los habitantes del mundo rural, mejora la autoestima y estimula el ingenio. También significa un mejoramiento de la belleza escénica.(Servicio Agrícola Ganadero (SAG), 2021)

### **8.3 Suelo**

El suelo, es un recurso multifuncional, sumamente complejo y variable, formado por partículas minerales, materia orgánica, agua, aire y organismos vivos. Además, representa la reserva mundial del 90% de alimentos, sirve de base para las actividades humanas, el paisaje y funciona como proveedor de materias primas. Alrededor del 15% de la superficie del planeta se ha degradado y se encuentran cada vez con más frecuencia suelos cuya degradación es tan extrema que se considera se irreversible (González, 2006). Como consecuencia en las últimas décadas, se ha incrementado el interés de evaluar la calidad y salud del recurso suelo.(Vásquez, 2017)

### **8.4 Microorganismos del suelo**

El suelo está formado por cinco componentes principales: minerales, agua, aire, materia orgánica y seres vivos, cuya proporción no es la misma en todos los suelos. El aire y el agua juntos representan alrededor de la mitad del volumen del suelo. El agua se mueve por acción de la gravedad atravesando los poros más grandes y una parte es retenida por interacciones con los otros constituyentes inertes, siendo aprovechada por los organismos vivos sólo una fracción de la misma. La aireación y la humedad están interrelacionadas, ya que los poros que no contienen agua están llenos de gas. La atmósfera subterránea es diferente de la superficial porque tiene menos oxígeno y comúnmente de diez a cien veces más CO<sub>2</sub> debido a la actividad biológica (Hurst J, 1997).

## 8.5 Clasificación de los microorganismos

Dentro del suelo agrícola nos podemos encontrar diferentes tipos de hongos y bacterias, el amplio espectro de comunidades microbiológicas es sorprendente, no solo en la agricultura, sino también, en los diferentes hábitats habituales en los que nos encontramos. Algunos de estos microorganismos serán benéficos y nos ayudarán en muchos tratamientos orgánicos. Sin embargo, otros serán perjudiciales (Rodríguez, Natalia; Michael; Pennock, 2019).

## 8.6 Bacterias

Aunque son numerosas, debido a su pequeño tamaño, sólo representan menos de la mitad de la biomasa microbiana total. La abundancia se puede medir por medio del conteo en placas o estimando, a través de microscopía directa (108 a 1010 bacterias/g de suelo). Las bacterias del suelo pueden clasificarse en dos grandes grupos: (Sánchez, 2006)

**Especies nativas o autóctonas:** están presentes en el suelo y su número se mantiene aproximadamente constante, con excepción de aquellas nativas denominadas “zimógenas” por Winogradsky, que proliferan ante el agregado de un sustrato específico.

**Especies alóctonas:** a diferencia de las anteriores, no participan activamente en las funciones bioquímicas de la comunidad. Llegan al suelo con las precipitaciones, en tejidos enfermos, aguas negras. Se pueden agrupar las bacterias del suelo por grupos funcionales, siendo ésta la forma más importante desde el punto de vista agronómico, en:

**Bacterias amonificadoras:** descomponen las sustancias orgánicas nitrogenadas y las transforman en amonio o en sales amoniacales.

**Bacterias nitrificadoras:** oxidan el amoníaco hasta nitrato.

**Bacterias fijadoras de nitrógeno:** toman el N atmosférico (N<sub>2</sub>) y lo transforman en compuestos aprovechables por los vegetales.

**Bacterias celulolíticas:** degradan la celulosa. Es el grupo más numeroso por ser este compuesto el más abundante en los residuos vegetales.

**Bacterias pectinolíticas:** degradan la pectina y sus derivados. El género más abundante es *Arthrobacter*.

### **8.7 Actinomicetes**

Son bacterias (células procariotas) que se parecen a los hongos por tener micelio aéreo ramificado. Las colonias pueden ser pulverulentas o consistentes. Están distribuidos en diversos hábitats: estiércol, fango, etc. Se encuentran en distintas profundidades y son casi tan abundantes como el resto de las bacterias. (Sánchez, 2006)

Son aeróbicos y menos sensibles a la sequedad que éstas. Son heterótrofos, entre otras sustancias, utilizan la quitina como fuente de carbono. En general son saprófitos. Suelos ricos en materia orgánica les benefician por el carbono aprovechable. Su actividad también se ve favorecida por la presencia de restos vegetales, estiércol, y derivados proteicos. No tienen gran capacidad competitiva, por lo que escasean relativamente en las etapas iniciales de la descomposición de los vegetales. Su densidad y actividad se incrementan en la etapa final de la degradación, luego de actuar hongos y bacterias, cuando los nutrientes se van haciendo limitantes y la presión de los competidores disminuye. La densidad varía entre 10<sup>5</sup> y 10<sup>8</sup> en suelos templados. El género más abundante es *Streptomyces*. Producen metabolitos antimicrobianos entre ellos 50 antibióticos de uso común. (Sánchez, 2006)

### **8.8 Cianofíceas**

Estas bacterias son capaces de fotosintetizar y fijar N<sub>2</sub>. Estas características les permiten actuar de colonizadoras en materiales originales. Pueden tener gran importancia en arrozales inundados. Cuando el pH es superior a 6 y el nivel de fósforo alto, en los suelos inundados predominan afloramientos de cianofíceas, generalmente pertenecientes a los géneros *Anabaena*, *Nostoc*, *Oscillatoria* y *Calothrix*.

Estos microorganismos aportan oxígeno y nitrógeno al arrozal. También aportan estimulantes de crecimiento. Algunas de estas especies pueden utilizar nitrógeno molecular constituyéndose como fijadores libres de nitrógeno (*Anabaena*, *Nostoc*, *Chroococcus*, *Oscillatoria*). El aporte de oxígeno proveniente de la fotosíntesis suele ser de gran importancia debido a los requerimientos de las raíces sumergidas. (Sánchez, 2006)

### **8.9 Algas**

Su abundancia en el suelo es menor que la de las bacterias, hongos y actinomicetes. Las algas son autótrofas. Usan la luz como fuente de energía, toman CO<sub>2</sub> del aire y obtienen agua y

minerales del suelo. Poseen clorofila, aunque a veces se encuentre enmascarada por otros pigmentos. Algunas están adaptadas a la vida a mayor profundidad y son heterótrofas o autótrofas facultativas, es decir que pueden metabolizar una variedad de hidratos de carbono (almidón, sacarosa, glucosa, etc.), obteniendo la energía de las oxidaciones del carbono orgánico. Las algas, pobremente adaptadas a la heterotrofia, no son buenas competidoras frente a bacterias y hongos, por lo que su contribución a las reacciones biológicas es mínima.

En realidad, la principal función de las algas de hábitats terrestres es la generación de materia orgánica a partir de sustancias inorgánicas a través de la fotosíntesis, incrementando la cantidad de carbono orgánico. Esto es de suma importancia en la colonización de áreas desnudas, estériles o suelos erosionados.(Sánchez, 2006)

### 8.10 Hongos

Los hongos, aunque no son los organismos más importantes del suelo, aportan una parte significativa de la biomasa, debido a su gran tamaño. Además, son los principales agentes de descomposición en ambientes ácidos. En contraste con las bacterias, los hongos pueden diferenciarse en forma efectiva en base a su morfología. Poseen un micelio ramificado formado por hifas independientes, septadas o no, y diversas estructuras reproductivas que pueden formar esporas sexuales o asexuales.

Muchos géneros forman estructuras de resistencia (o de supervivencia) que les permite soportar períodos de condiciones adversas. Son pioneras en áreas áridas o desnudas. Suelen aparecer en grandes masas en suelos erosionados o después de un incendio relativamente largos. En medio de cultivo el micelio suele ser incoloro y las esporas coloreadas.

Todos los hongos son heterótrofos y una de las principales actividades es la degradación de moléculas complejas. Utilizan como fuente de carbono el almidón, pectina, disacáridos, celulosa, ácidos orgánicos, lignina (difícil de degradar por bacterias). Toman el nitrógeno del amonio o nitrato, pero también de proteínas, ácidos nucleicos, etc. Por ser heterotróficos dependen de la disponibilidad de sustratos carbonados oxidables. Al incorporar sustratos carbonados se incrementa la comunidad y también varía el dominio relativo de géneros como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Beauveria*.(Sánchez, 2006)

**Trichoderma spp.:** lo podemos considerar como un hongo bueno o antagónico. Es el hongo más extendido por todo tipo de suelos. Coloniza rápidamente las raíces de las plantas y las

protege contra patógenos. El *Trichoderma* ha desarrollado numerosos mecanismos para atacar a otros hongos y a la vez mejorar el crecimiento de las raíces de las plantas, tiene un alto poder de fertilización, ya que contiene metabolitos benéficos que estimulan el crecimiento de la planta. Sobre todo, incide en el crecimiento radicular, consiguiendo unas raíces más grandes y más sanas. (Soil & Es, 2012)

### **Clasificación taxonómica**

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Dominio: Eukaryota

Familia: Hypocreaceae

División: Ascomycota

Género: *Trichoderma*; Persoon, 1801

**Beauveria Bassiana:** es un hongo imperfecto de la clase Deuteromycetes, capaz de infectar a más de 200 especies de insectos. Es de apariencia polvosa, de color blanco algodonoso o amarillento cremoso. El ciclo de vida de este hongo consta de dos fases: la patogénica y la saprofítica. El desarrollo del hongo se puede dividir hasta en ocho etapas. (Soil & Es, 2012)

### **Clasificación taxonómica**

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Clavicipitaceae

Género: *Beauveria*

Especie: *Beauveria bassiana*

**Fusarium sp.:** *Fusarium* pertenece a la familia Nectriaceae. Es un extenso género de hongos filamentosos ampliamente distribuido en el suelo y en asociación con plantas. Se puede decir que es una bacteria gram negativa igual que la *Rhizoctonia*, la mayoría de las 28 especies son

saprófitas y son unos miembros relativamente abundantes del micro biota del suelo. *Fusarium* es un hongo patógeno que causa la putrefacción de la raíz y el marchitamiento vascular. (Soil & Es, 2012)

### **8.11 Virus**

Son agentes ultramicroscópicos que dependen para su desarrollo de la presencia de un hospedante adecuado o específico. Debido a ello se ha clasificado a los virus de acuerdo al hospedante. Existe un grupo de virus parásitos de plantas (virus fitopatógenos), otro de animales y otro de microorganismos. Entre estos últimos se pueden citar los bacteriófagos, actinófagos y otros que parasitan hongos, levaduras, algas y protozoarios. El grupo más estudiado de los virus que parasitan a los habitantes del suelo es el de los bacteriófagos. Morfológicamente presentan, por lo general, estructuras semejantes a una cabeza y una cola. Luego de la entrada del bacteriófago a la célula y de su posterior reproducción en su interior, ocurre la lisis.

Se han encontrado virus específicos de diversos géneros: *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Rhizobium* y en actinomicetes como *Nocardia* y *Streptomyces*. Los bacteriófagos nunca son muy abundantes como para limitar poblaciones.

Entre los virus que parasitan hongos, se observaron virus que producían enfermedades y eran transmitidos desde el micelio infectado a las hifas cercanas. Se han encontrado virus en especies de *Aspergillus*, *Boletus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, y otros. Morfológicamente son distintos a los bacteriófagos, pues no tienen estructuras en forma de cola. Los virus en los hongos pueden no producir daños apreciables o por lo contrario, ocasionar el crecimiento anormal de las hifas e inducir a la formación de cuerpos fructíferos anormales y provocar la pérdida de viabilidad. Los virus que parasitan cianofíceas son semejantes a los bacteriófagos. Se los denomina generalmente cianófagos. Se los encuentra en ríos, lagos, estanques y aguas salobres. Sus hospedantes pertenecen a los géneros *Anabaena*, *Nostoc*, *Microcystis* y *Oscillatoria*. Los virus fitopatógenos pueden persistir en el suelo hasta la siguiente estación de cultivo. Es posible, aunque aún no se sabe con seguridad, que los virus que parasitan insectos de suelo puedan llegar a limitar poblaciones. (Sánchez, 2006)

### **8.12 Protozoarios**

Son protistas unicelulares, eucarióticos, cuyo tamaño varía entre 5 y 100  $\mu$  y 1 o más centímetros. Están emparentados con algas y hongos. En general carecen de pared celular verdadera. Todas las especies terrestres son microscópicas y en general no tienen clorofila. Algunos son fotosintéticos emparentados con las algas. La mayoría son saprófitos, alimentándose de sustancias solubles orgánicas e inorgánicas, o fagótrofos, alimentándose directamente de microorganismos o partículas. Este último tipo de nutrición predomina en el suelo.

La partícula ingerida es encerrada en una vacuola donde se produce su digestión, pues el protozoo puede fabricar todas las enzimas necesarias. Tienen selectividad respecto a la presa. Consumen cocos, bacilos y algunas algas, pero no *Clostridium*, ni esporas de bacterias y hongos, ni tampoco hifas. Cuando hay poca disponibilidad de células se enquistan, pero la presencia de ciertas bacterias en la cercanía favorece el desenquistamiento. Son abundantes en los 15 cm superiores del suelo. La abundancia de bacterias y las fertilizaciones ejercen un efecto benéfico sobre los protozoos. Los flagelados soportan poca humedad. Se los ha encontrado en el desierto del Sahara. Por lo contrario, los ciliados necesitan mucha humedad. Si el agua es limitante se enquistan. En general son aerobios, hay algunos microaerófilos y unos pocos anaerobios.

Normalmente varían entre 10.000 y 100.000 / g de suelo, pero pueden llegar a cifras extremas de 300.000. Regulan el tamaño de las poblaciones microbianas. Existe un equilibrio aún no explicado. Permiten que se desarrollen bacterias competidoras, al ir eliminando a la población que más se desarrolla. También pueden vivir en medios libres de microorganismos, lo que indicaría que pueden intervenir en la descomposición de restos vegetales. (Sánchez, 2006)

### **8.13 Aplicaciones de Microorganismos Eficientes**

Higa, T. 1989, traducido por Rueda, P. 2002, mencionan que las aplicaciones de los microorganismos eficientes al suelo pueden ayudar a definir la estructura y establecimiento de ecosistemas naturales. La aplicación de un amplio rango de diferentes enmiendas orgánicas a los suelos puede también ayudar a asegurar una gran diversidad microbiológica. Por ejemplo:

IDIAF (2009), manifiesta que el mejor uso de EM en agricultura depende de la zona, la calidad del suelo, el clima, los métodos de cultivo y la irrigación, entre otros factores. Con la



aplicación de EM el suelo retiene más agua. Este cambio implica una mejora de los cultivos que incrementan su resistencia al estrés hídrico en épocas de sequía o en suelos más arenosos. Esta mejora viene dada tanto por el incremento de materia orgánica en el suelo, reduciendo la porosidad, como consecuencia de la actividad microbiana, como por el equilibrio iónico que aporta EM al suelo, favoreciendo así la interacción de las cargas superficiales de la estructura física del suelo con las cargas iónicas del agua. (TITTO, 2020)

El EM, como inoculante microbiano, restablece el equilibrio microbiológico del suelo, mejorando sus condiciones físico-químicas, incrementa la producción de los cultivos y su protección, además conserva los recursos naturales, generando una agricultura y medio ambiente más sostenible. Entre los efectos sobre el desarrollo de los cultivos se pueden encontrar (Vélez, 2015).

## **8.14 Uso de los microorganismos en la agricultura**

### **8.14.1 En semilleros**

- Aumento de la velocidad y porcentaje de germinación de las semillas, por su efecto hormonal, similar al del ácido giberélico.
- Aumento del vigor y crecimiento del tallo y raíces, desde la germinación hasta la emergencia de las plántulas, por su efecto como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal.
- Incremento de las probabilidades de supervivencia de las plántulas.

### **8.14.2 En las plantas**

- Genera un mecanismo de supresión de insectos y enfermedades en las plantas, ya que pueden inducir la resistencia sistémica de los cultivos a enfermedades.
- Consume los residuos de raíces, hojas, flores y frutos, evitando la propagación de organismos patógenos y desarrollo de enfermedades.
- Incrementa el crecimiento, calidad y productividad de los cultivos.
- Promueven la floración, fructificación y maduración por sus efectos hormonales en zonas meristemáticas.
- Incrementa la capacidad fotosintética por medio de un mayor desarrollo foliar.

### 8.14.3 En los suelos

Los efectos de los microorganismos en el suelo, están enmarcados en el mejoramiento de las características físicas, químicas, biológicas y supresión de enfermedades. Así pues, entre sus efectos se enmarcan en:

- Efectos en las condiciones físicas del suelo: Acondicionador, mejora la estructura y agregación de las partículas del suelo, reduce su compactación, incrementa los espacios porosos y mejora la infiltración del agua. De esta manera se disminuye la frecuencia de riego, tornando los suelos capaces de absorber 24 veces más las aguas lluvias, evitando la erosión, por el arrastre de las partículas.
- Efectos en las condiciones químicas del suelo: Mejora la disponibilidad de nutrientes en el suelo, solubilizándolos, separando las moléculas que los mantienen fijos, dejando los elementos disgregados en forma simple para facilitar su absorción por el sistema radical.
- Efectos en la microbiología del suelo: Suprime o controla las poblaciones de microorganismos patógenos que se desarrollan en el suelo, por competencia. Incrementa la biodiversidad microbiana, generando las condiciones necesarias para que los microorganismos benéficos nativos prosperen. (TITTO, 2020)

### 8.15 Condiciones ideales para el uso de microorganismos eficientes

El EM se compone de seres vivos; por lo tanto, no deberá ser utilizado de la misma manera que los químicos y los agrotóxicos, pues esto tenderá a reducir su eficacia. Nunca debe ser diluido con agrotóxicos o fertilizantes. Debe tenerse sumo cuidado en su manejo, para asegurar su fijación al suelo. Los microorganismos son muy sensibles a las sequías, por eso durante el verano, cuando el sol es más fuerte, la aplicación deberá ser hecha al atardecer, o en días nublados (Nogales, 2012).

Las condiciones ideales para la aplicación serán antes o después de las lluvias, cuando el suelo está húmedo. El uso del EM diluido es conveniente hacerlo en un periodo máximo de tres días. En caso de tener que aplicar EM a nivel foliar, se deberá hacer la dilución con agua de buena calidad, hasta llegar a una dilución con un pH en torno a los 6.5, si este fuera mayor utilizar; por ejemplo, vinagre para disminuir el pH. Los materiales porosos mejoran el suelo, física y químicamente, aumentan la capacidad de retención de nutrientes y, al mismo tiempo se vuelven albergue para los microorganismos. Por esto la incorporación de cascara de arroz

carbonizada, de cáscara de arroz semicarbonizada, etc. Es muy eficaz. La cantidad a incorporar deberá ser de 100 a 200 Kgs por hectárea, y la incorporación debe hacerse durante algunos años.(TITTO, 2020)

### **8.16 Trampas de arroz para la identificación de microorganismos.**

Las trampas de arroz las utilizamos principalmente para conocer la cantidad y diversidad de hongos que tenemos en un terreno. La identificación de la microbiología edáfica es un proceso complejo que requiere experiencia y formación específica, cuanto más diversa sea la microbiología de nuestra tierra, es decir, cuantos más colores y formas aparezcan en nuestras trampas, previamente identificadas según su morfología más rica es nuestra tierra y, por tanto, más equilibrio y salud para nuestros cultivos (Aguilar, 2015).

### **8.17 Muestras de suelo para la cuantificación de microorganismos.**

Los microorganismos del suelo contribuyen al mantenimiento de la fertilidad química, física y biológica del suelo. Transforman nutrientes inorgánicos, que de otra forma no pueden ser absorbidos por la planta; además favorecen la descomposición y mineralización de la materia orgánica.

Según (Parra, 2017) menciona que las muestras de suelo se deben tomar cuando:

- Cuando se desee cuantificar la población microbiológica.
- Para confirmar la presencia o ausencia de fitopatógenos que pueden afectar un cultivo. O bien la presencia o ausencia de microorganismos benéficos.
- Para identificar y aislar microorganismos (benéficos y patógenos) del suelo.
- Para obtener curvas de mineralización de un terreno.
- Cuando se desee conocer la actividad enzimática del suelo.
- Para conocer el efecto de prácticas agronómicas sobre la población de microorganismos.

### **8.18 Agar para Métodos Estándar (PCA)**

El Agar para Métodos Estándar (PCA) está recomendado por APHA para el recuento de bacterias de interés sanitario, que son indicadores de contaminación o carga microbiana en alimentos. El digerido enzimático de caseína proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura es fuente de vitaminas,

particularmente del grupo B. La dextrosa es el carbohidrato fermentable que proporciona carbono y energía. El agar bacteriológico es el agente solidificante. A partir de una serie de diluciones decimales de la muestra a analizar, se toma 1 mL de cada dilución y por duplicado se depositan en placas de Petri estériles. A continuación se vierten alrededor de 20 mL del medio de cultivo, previamente enfriado a 45°C sobre cada una de las placas. Se mezcla suavemente, moviendo la placa en forma de ocho sobre una superficie plana y lisa. Una vez solidificadas se incuban en posición invertida. El tiempo y la temperatura de incubación dependerán del tipo de microorganismos a enumerar. Para un recuento aeróbico general se incubará 3 días a 30°C, realizando también lecturas a las 48 y 72 horas. El método de recuento propuesto por APHA es simplemente, un inóculo en masa por vertido del agar fundido a 50°C, sobre las placas donde se han depositado las diluciones de las muestras. La enumeración definitiva se lleva a cabo a las 48 horas de incubación a 32 -35°C (Scharlau, 2015).

### **8.19 PDA (Potato Dextrose Agar)**

El agar de patata glucosado es un medio recomendado para la detección y enumeración de hongos a partir de alimentos como productos lácteos, cárnicos y frutos secos. Este medio es selectivo ya que su alto contenido de glucosa y bajo pH favorece el crecimiento de los hongos y además el extracto de patata exalta el crecimiento micelial aéreo y la formación de pigmentos característicos sobre todo en *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*.

Se utiliza para el aislamiento, enumeración y cultivo de levaduras y mohos a partir de muestras. También se puede utilizar en la identificación de hongos y levaduras en paralelo con su morfología celular o en métodos de micro cultivo en portaobjetos. La infusión de dextrosa y papa (BEEVER y BOLLARD 1970) promueve el crecimiento de levaduras y mohos mientras que el bajo valor del pH inhibe parcialmente el crecimiento de la flora bacteriana acompañante. El agar es un agente solidificante. Si el medio se va a utilizar para el recuento de hongos y la enumeración de levaduras y mohos, el pH debe ajustarse a aproximadamente 3.5 para inhibir el recuento bacteriano. Mediante la adición de una solución esterilizada de ácido tartárico al 10% a 1000 ml de medio esterilizado para obtener un pH de 3.5. Los hongos crecen en este medio para desarrollar la morfología típica. Este medio de uso general puede complementarse con ácido o antibióticos para inhibir el crecimiento bacteriano (Calidad, 2020).

## 8.20 Tinción de Gram

El método de tinción más extensamente utilizado en bacteriología, Nos posibilita dividir a las bacterias en 2 enormes equipos taxonómicos: Gram positivas y Gram negativas, según sea su comportamiento ante la tinción. Se considera que la diferencia en la coloración que adquieren ambos equipos de bacterias se debería a la distinta estructura química del muro celular. Las bacterias Gram positivas poseen una gruesa capa de mureína o peptidoglicano (de 20 a 80 nm de espesor) en su pared, mientras tanto que las bacterias Gram negativas poseen una capa de peptidoglicano (2 nm) más fina y una capa más externa de lipopolisacáridos, lipoproteínas y lípidos.

La tinción necesita 4 resoluciones un colorante o tinte fundamental, un mordiente (sustancia que aumenta la afinidad entre la célula y el tinte), un decolorante (elimina el tinte de una célula teñida) y un segundo tinte o colorante de contraste (tinte de color distinto al inicial). Tras la tinción con el primer colorante (Cristal violeta) se efectúa una decoloración con etanol que arrastrará al colorante solamente en las Gram negativas, mientras tanto que en las Gram positivas el colorante queda retenido y las células prevalecerán azules. Las células Gram negativas se teñirán luego con el colorante de contraste (safranina) para que logren observarse (Arcos, 2000).

La tinción de Gram puede conceder información instantánea para diagnósticos de infecciones, puede revelar los agentes causales inclusive con una toma de muestra no correcta. Además hace viable diferenciar entre contaminación de la muestra y una verdadera infección. Puede apoyar al clínico a continuar o modificar un procedimiento antibiótico inicial antecedente de los resultados del cultivo, y en algunas ocasiones, es capaz de demostrar la necesidad de una atención médica urgente. En la actualidad la tinción de Gram todavía es un procedimiento eficaz e fundamental en el laboratorio, además de que es veloz y económico, por lo cual se debería estandarizar para evadir errores técnicos o de interpretación (Rodríguez & Arenas, 2018).

## 8.21 Fórmulas:

### Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_{X_1 X_2} \cdot \sqrt{\frac{2}{n}}}$$

## CAPÍTULO III

### 9. MARCO LEGAL

Este proyecto de investigación se sostiene bajo las normativas legales nacionales e internacionales, que el artículo 14 se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*. Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Que el artículo 15, menciona que el estado promoverá, en el sector público y privado, el uso de tecnologías ambientalmente limpias y de energías alternativas no contaminantes y de bajo impacto. La soberanía energética no se alcanzará en detrimento de la soberanía alimentaria, ni afectará el derecho al agua. Se prohíbe el desarrollo, producción, tenencia, comercialización, importación, transporte, almacenamiento y uso de armas químicas, biológicas y nucleares, de contaminantes orgánicos persistentes altamente tóxicos, agroquímicos internacionalmente prohibidos, y las tecnologías y agentes biológicos experimentales nocivos y organismos genéticamente modificados perjudiciales para la salud humana o que atenten contra la soberanía alimentaria o los ecosistemas, así como la introducción de residuos nucleares y desechos tóxicos al territorio nacional.

Que el artículo 71, menciona que la naturaleza o *pacha mama*, donde se reproduce y realiza la vida, tiene derecho a que se respete integralmente su existencia y el mantenimiento y regeneración de sus ciclos vitales, estructura, funciones y procesos evolutivos.

Toda persona, comunidad, pueblo o nacionalidad podrá exigir a la autoridad pública el cumplimiento de los derechos de la naturaleza. Para aplicar e interpretar estos derechos se observarán los principios establecidos en la Constitución, en lo que proceda. El Estado incentivará a las personas naturales y jurídicas, y a los colectivos, para que protejan la naturaleza, y promoverá el respeto a todos los elementos que forman un ecosistema.

Artículo 72, la naturaleza tiene derecho a la restauración. Esta restauración será independiente de la obligación que tienen el estado y las personas naturales o jurídicas de indemnizar a los individuos y colectivos que dependan de los sistemas naturales afectados.

En los casos de impacto ambiental grave o permanente, incluidos los ocasionados por la explotación de los recursos naturales no renovables, el Estado establecerá los mecanismos

más eficaces para alcanzar la restauración, y adoptará las medidas adecuadas para eliminar o mitigar las consecuencias ambientales nocivas.

Artículo 73, el estado aplicará medidas de precaución y restricción para las actividades que puedan conducir a la extinción de especies, la destrucción de ecosistemas o la alteración permanente de los ciclos naturales. Se prohíbe la introducción de organismos y material orgánico e inorgánico que puedan alterar de manera definitiva el patrimonio genético nacional.

Artículo 74, las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades tendrán derecho a beneficiarse del ambiente y de las riquezas naturales que les permitan el buen vivir. Los servicios ambientales no serán susceptibles de apropiación; su producción, prestación, uso y aprovechamiento serán regulados por el Estado.

## **10. HIPÓTESIS**

Esta herramienta se aplicará para evaluar las medias de uno o dos grupos mediante pruebas de hipótesis. Determina si un único grupo difiere de un valor conocido (una prueba t de una muestra), si dos grupos difieren entre sí (prueba t de muestras independientes), o si hay una diferencia significativa en medidas pareadas (una prueba t de muestras dependientes o pareada).

### **10.1 Hipótesis Alternativa**

**HA:** Existe variación significativa según los datos obtenidos en la colonización de microorganismos identificados en dos terrazas agrícolas.

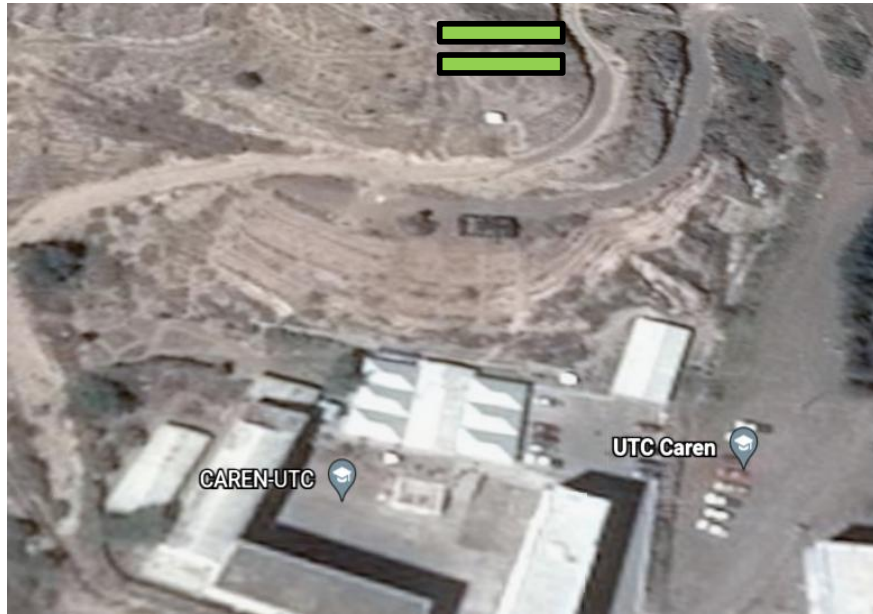
### **10.2 Hipótesis Nula**

**HO:** No existe variación significativa según los datos obtenidos en la colonización de microorganismos identificados en dos terrazas agrícolas.

## **11. MARCO METODOLÓGICO**

### **11.1 Ubicación del área de estudio**

La investigación se desarrolló en el Campus Salache, Parroquia Eloy Alfaro, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi.



Fuente: Google Earth

*Tabla 1: Coordenadas del lugar de estudio.*

<b>COORDENADAS DE ESTUDIO</b>	
Coordenada S	0° 59' 60"
Coordinate W	78° 37' 28"
Elevación	2749m.s.n.m

Fuente: (Sánchez, 2022)

## 11.2 Materiales

### a. Equipos

Cámara fotográfica

Computadora

### b. Materiales de campo

32 tarrinas de 8 onz

Ligas de caucho

Malla de tela cortadas en pequeños trozos

Balanza analítica



### **c. Materiales para la preparación de las trampas**

4 libras de arroz blanco

Melaza

4litros de agua

## **11.3 Métodos**

### **a. Inductivo**

#### **Observación**

Se realizó toma de datos en identificación a los 8 días que las trampas fueron totalmente colonizadas.

#### **Experimentación**

Se realizó un medio de cultivo PDA para la siembra de hongos para lo cual se tomó muestras de arroz separadas por diferentes colores para posterior aquello realizar su respectiva identificación.

Se tomó muestras de suelo especiales para la cuantificación de microorganismos, se aplicó dos tipos de medios de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar) especial para la numeración de hongos y PCA (Plate Count) para el conteo de bacterias,

#### **Comparación**

Con ayuda de una prueba T se logró realizar una comparación entre dos terrazas agrícolas las cuales arrojaron resultados que la terraza ocho cuenta con más diversidad de hongos y bacterias que en la terraza siete, además que cuenta con mayor cantidad de microorganismos.

### **b. Deductivo**

#### **Demostración**

Se empleó dos terrazas agrícolas para la respectiva comparación tanto en diversidad como en cuantificación de microorganismos localizados.

### **c. Técnicas**

Morfología de hongos, esta técnica se utilizó para su posterior identificación de microorganismos localizados en dos terrazas agrícolas.

Conteo en placas de Petri, para registrar los parámetros residentes en datos numéricos para la cuantificación de microorganismos.

### **11.4 Características climatológicas del lugar de la investigación**

La presente investigación se realizó en la Universidad Técnica de Cotopaxi, la zona que se ha escogido para el estudio es parte de las terrazas de banco en el campus Salache, en este lugar la universidad cuenta con varios proyectos en las cuales se han dado un correcto seguimiento. El sector de las terrazas de banco cuenta con una diversidad de cultivos, el lugar a investigar cuenta con una superficie de 384 m<sup>2</sup> para la terraza siete y 428,4 m<sup>2</sup> para la terraza ocho tomando en cuenta las siguientes características climatológicas:

Temperatura promedio: 12 a 22 °C

Pluviosidad (mm anuales): 220 mm

Heliofanía (horas luz/día): 12 horas

Viento: Sureste-Noroeste

Velocidad del viento: 3 y 7 m/s.

Humedad relativa: 85 al 90%

Altura: 2749 m.s.n.m.

Suelo: Arenoso

PH: 9,4

### **11.5 Factores en estudio**

#### **a. Conteo de microorganismos (hongos y bacterias)**

Muestras de suelo

#### **b. Sectores agrícolas**

Terraza de banco número siete.

Terraza de banco número ocho.

### 11.6 Características de la parcela

*Tabla 2: Caracterización de las parcelas para la implementación de un diseño experimental en la terraza 7.*

<b>CARACTERÍSTICAS DE LAS PARCELAS</b>	
Área de parcela	96 m <sup>2</sup>
Número de repeticiones	4
Número de tratamientos	4
Distancia entre parcelas	2m
Ancho de la parcela	6 m
Largo de la parcela	16 m
Número de trampas por parcelas	4 trampas
Distancia entre trampa	2 m
Número de trampas de la parcela neta	4 trampas
Área total de trabajo	384 m <sup>2</sup>

Fuente: (Sánchez, 2022)

*Tabla 3: Caracterización de las parcelas para la implementación de un diseño experimental en la terraza 8.*

<b>CARACTERÍSTICAS DE LAS PARCELAS</b>	
Área de parcela	107,1m <sup>2</sup>
Número de repeticiones	4
Número de tratamientos	4
Distancia entre parcelas	2m
Ancho de la parcela	6,30m
Largo de la parcela	17m

Número de trampas por parcelas	4 trampas
Distancia entre trampa	2 m
Número de trampas de la parcela neta	4 trampas
Área total de trabajo	428,4 m <sup>2</sup>

Fuente: (Sánchez, 2022)

### 11.7 Variable en Estudio

#### a. Variable independiente

Muestras de suelo

#### b. Variable Dependiente

Porcentaje de colonización de microorganismos.

#### c. Indicadores

Cuantificación de hongos y bacterias.

### 11.8 Datos registrados durante el proceso de investigación

#### a. Porcentaje de colonización de microorganismos benéficos

Para la variable porcentaje de colonización se registraron los datos de cuatro tratamientos por cada repetición obteniendo así 16 trampas totales para la investigación, la medición se realizó con ayuda de un medidor casero y los datos se expresan en porcentaje, los mismos que se registraron a los 18 días después de su captura, este proceso se realizó durante el mes del 13 de abril al 27 de mayo, en el cual se implementó la investigación.

### 11.9 Operación de variables

*Tabla 4: Operación de variables para la implementación de trampas de arroz en dos sistemas agrícolas.*

TIPO DE VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES CAREGORÍAS	ÍNDICE
INDEPENDIENTE	Suelo	Gramos	gr

<p>Muestras de suelo:</p> <p>Para identificar microorganismos (benéficos y patógenos) del suelo. Cuando se desee cuantificar la población microbiológica.</p> <p>Para confirmar la presencia o ausencia de fitopatógenos que pueden afectar un cultivo. O bien la presencia o ausencia de microorganismos benéficos.</p>			
<p><b>DEPENDIENTE</b></p> <p>Cuantificación de hongos y bacterias.</p> <p>Es un método común para saber el estado en el cual se encuentra nuestro suelo y tener en cuenta las normativas que se lleven a cabo para su posterior tratamiento en caso de que no se encuentren en condiciones correctas previas a la implementación de cultivos.</p>	<p><b>Conteo</b></p>	<p>Datos numéricos de colonización de microorganismos.</p>	<p>Número</p>

Fuente: (Sánchez, 2022)

### 11.10 Manejo del Ensayo

#### a. Procedimiento de la elaboración de trampas de arroz posterior a su implementación en campo.

Al realizar un proyecto investigativo en el laboratorio se deben tener sus respectivas normativas de seguridad para empezar a trabajar para asegurarnos de no infectar los medios de cultivo que se utilizó.

Como primer paso en un recipiente se colocó 4 litros de agua, hasta llegar al punto de ebullición y se colocó 4 libras de arroz, por lo que se dejó en cocción 10 minutos que esté en el punto adecuado para capturar microorganismos. Posteriormente se colocó 123gr de arroz en cada recipiente con una adición de melaza para atraer rápidamente a estos microorganismos,

estas muestras se cubrieron con media nylon y se sujetó con ligas de caucho. Finalmente en las terrazas de banco se procedió a realizar hoyos de 30 por 30, y se colocó las trampas, estos sitios fueron cubiertos con plástico negro para una mayor colonización dentro de 8 días.

### **11.11 Registro de Datos**

El registro de datos se realizó una vez transcurrido los 8 días de la aplicación de las trampas en campo.

### **11.12 Aislamiento e identificación de hongos en un medio de cultivo PDA**

Para la obtención de la información de este proceso se realizó un medio de cultivo, para esto tomamos 30,12 gramos de PDA diluimos en 800 ml de agua destilada y lo enviamos a la autoclave que este entre en punto de ebullición una vez transcurrido 35 minutos procedemos a retirar los envases con el medio de cultivo, cabe mencionar que la cámara de flujo debe estar previamente desinfectada posterior a ello encender un mechero. Una vez listo este proceso se llevó la solución a la cámara de flujo y se esperó que el medio se enfríe y se colocó en las cajas Petri previamente rotuladas con fecha y nombre una vez el agar se solidifique con ayuda de un asa bacteriológica esterilizada con ayuda del mechero se procedió a tomar una pequeña cantidad de arroz de cada color y colocarla de manera uniforme en toda la superficie del agar y posteriormente se selló con ayuda cinta parafilm. Este proceso se realizó con instrumentos esterilizados para cada muestra para evitar contaminaciones.

### **11.13 Colonización de hongos y bacterias**

Para datos numéricos de colonización de hongos y bacterias se procedió a tomar 32 muestras de suelo a una profundidad de 20cm en fundas ziploc de la terraza 7 y 8. Posteriormente estas muestras son llevadas al laboratorio utilizando los siguientes materiales:

64 cajas Petri

Probetas de 100ml

Tubos de ensayo

Agua destilada

Medio de cultivo PDA (Agar de Dextrosa de Papa)

Medio de cultivo PCA (Agar Plate Count)

Agitador vortex para probetas y tubos de ensayo

Contador de colonias

Una vez contemos con todos los instrumentos necesarios se preparó el medio de cultivo en 1400 mililitros de agua destilada se colocó 50 gramos de PDA (Agar de Dextrosa de Papa) a la vez las mismas cantidades de agua destilada requerimos para preparar 50 gramos del medio de cultivo PCA (Agar Plate Count) estos medios de cultivo fueron trasladados al autoclave por 35 minutos, al enfriarse se colocó en las cajas Petri para realizar el cultivo de hongos.

Posteriormente se procedió a pesar 10 gramos de cada muestra de tierra tomada anteriormente que se obtuvo de cada tratamiento y repetición, en una probeta se colocó 10 gramos de tierra y se llenó con agua destilada hasta llegar a los 100 mililitros, luego utilizó 3 tubos de ensayo con 9 mililitros de agua destilada. De la probeta se tomó un mililitro de la solución y se colocó en el primer tubo de ensayo este se insertó en el agitador vortex por 30 segundos este proceso se realizó 3 veces con los diferentes tubos de ensayo tomando una muestra de 1 mililitro hasta obtener un tubo de ensayo de 10 mililitros listo para ser sembrado. Finalmente se procedió a tomar 1 mililitro de cada tubo de ensayo por tratamiento y repetición y se colocó en los distintos medios de cultivo de las cuales se utilizó 64 cajas Petri por medio de cultivo obteniendo un total de 128 cajas realizadas de la terraza 7 y 8 sellándolas con cinta parafilm, se colocó en la incubadora a una temperatura de 37 grados centígrados por 48 horas para realizar el conteo y las diferentes observaciones.

#### **11.14 Tinción de Gram**

Para la obtención de esta información se procedió a recoger muestras de bacterias del medio de cultivo PCA (Agar Plate Count) realizado anteriormente. A continuación, se tomó en cuenta que antes de abrir cualquier placa de colonias se debe contar con un mechero de alcohol al 98% para mantener un ambiente de esterilidad, a la hora de comenzar con la tinción se realizó correctamente el frotis de los microorganismos, para ello se añadió una gota de solución salina en el portaobjetos y se aplicó la muestra con al asa bacteriológica previamente esterilizada. Posterior a ello se colocó la muestra encima de la llama del mechero con movimientos circulares hasta que esta se seque así las bacterias será fijadas al porta objetos a continuación la tinción se realizó con diferentes reactivos:

La primera tinción se realizó con violeta de genciana sobre el portaobjetos y esperar un minuto.

Se enjuagó la muestra con agua destilada y se aplicó lugol por un minuto.

Lavar de nuevo el portaobjetos y se colocó alcohol acetona durante 30 segundos.

El lavado se realiza antes de aplicar cada reactivo posterior aquello se aplicó safranina a la muestra por 1 minuto y lavar con agua destilada.

Finalmente se observó la muestra en el microscopio donde se visualizó de color violeta las gram positivas y de color rosa-rojizo las gram negativas.



## CAPITULO III

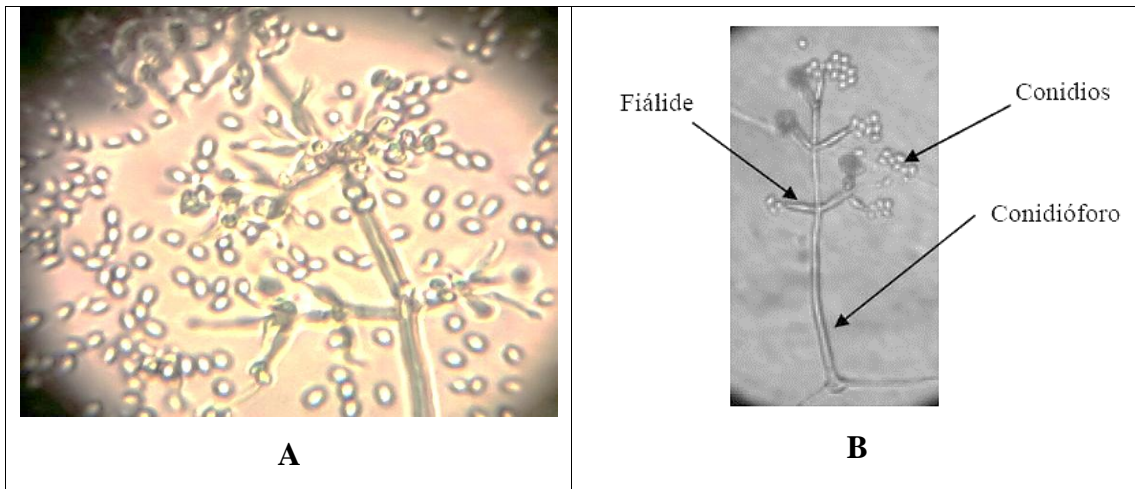
### 12. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La utilización de muestras de suelo para la cuantificación de microorganismos en dos medios de cultivo PDA y PCA son significativos con respecto a la numeración total obtenida de hongos y bacterias, los resultados obtenidos fueron sometidos a una herramienta de pruebas de hipótesis para determinar si un único grupo difiere de un valor conocido, si dos grupos difieren entre sí o si hay una diferencia significativa en medidas pareadas.

#### 12.1 Identificación de microorganismos

En la figura 1 se presenta el hongo encontrado en las dos terrazas agrícolas como es el caso de *Trichoderma*, que fue identificado mediante un medio de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar) es el más utilizado para el crecimiento de hongos y levaduras. Este medio es recomendado para realizar el recuento colonial. Al género *Trichoderma* se caracterizan por ser hongos saprófitos, que sobreviven en suelos con diferentes porciones de materia orgánica, los cuales son capaces de descomponerla. El género *Trichoderma* es un maravilloso modelo para ser estudiado gracias a su simple aislamiento y cultivo, acelerado. La mayor parte de las colonias de *Trichoderma* en su inicio poseen color blanco, que se vuelven a verde oscuro o amarillento, con esporulación densa, los conidióforos son ramificados, parecen un árbol diminuto (A). Los mismos se muestran como penachos compactados que conforman anillos con un sistema de ramas irregular de forma piramidal (B). Dichos terminan en fiálides donde están compuestos las esporas asexuales o conidios, de enorme trascendencia para la identificación taxonómica a grado de especies. Los conidios aseguran las generaciones del hongo a lo largo de parte importante del lapso vegetativo de las plantas por lo cual tenemos la posibilidad de decidir que se identificó este género en las 2 terrazas agrícolas (Infante et al., 2009).

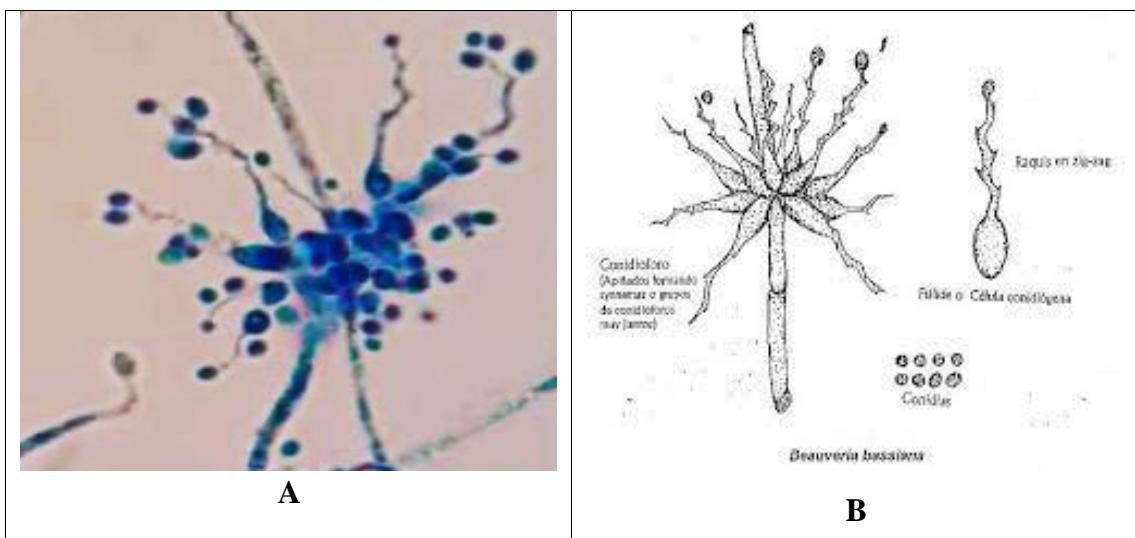
**Figura 1: A) Hifas y conidióforos de *Trichoderma* B) Esquema de conidióforo de *Trichoderma*.**



Fuente (Sánchez, 2022)

Para la identificación de *Beauveria* se utilizó en su morfología donde se forman conidióforos simples raramente agrupados, con apariencia de jarrón más ancho en el centro que en los extremos, los cuales sostienen los conidios, originados de forma simpodial o acrópeta, dando una apariencia en zigzag al raquis (figura 2). Tanto las esporas como las hifas, no son pigmentadas (hialinas), por lo que su apariencia es blancuzca para el ojo humano, por lo que pudimos identificar este género en las dos terrazas agrícolas mediante muestras de suelo con ayuda de trampas de arroz con melaza estas se sembraron en un medio de cultivo PDA que nos permitió sembrar por colores y hacer su respectiva identificación mediante una vista microscópica (Echeverría-beirute, 2019).

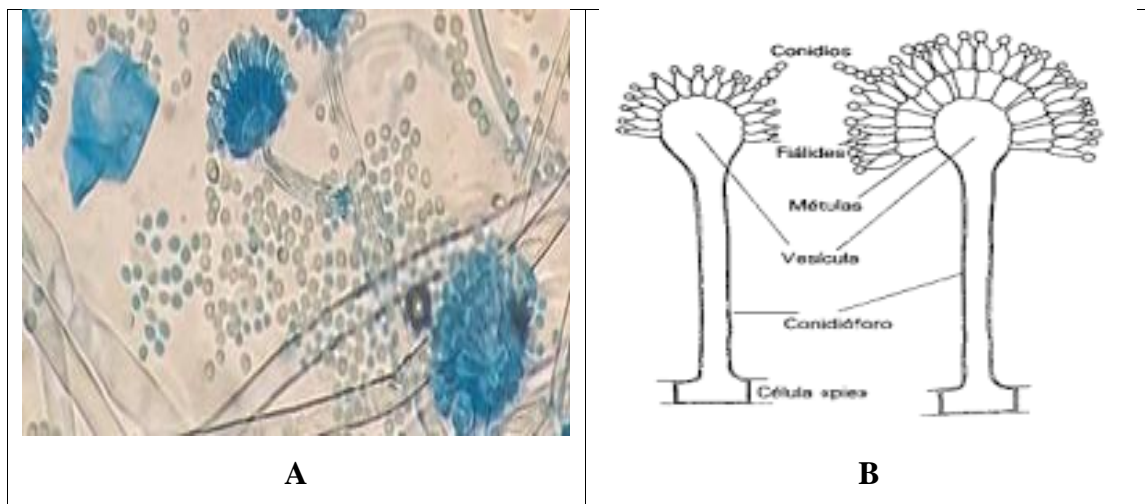
**Figura 2: A) Hifas y conidióforos de *Beauveria* B) Esquema de conidióforo de *Beauveria*.**



Fuente (Sánchez, 2022)

En la figura 3 pudo observar que se logró identificar *Aspergillus* esto se pudo identificar mediante trampas de arroz realizadas para la toma de muestras se tomó granos de arroz por colores y ser sembradas en medios de cultivo PDA previamente para ser identificadas microscópicamente con respecto a su morfología del hongo tenemos en cuenta el tamaño y forma de las cabezas conidiales, morfología de los conidióforos, fiálides y métulas, y en la presencia de células de Hülle y de esclerocios. Es un hongo filamentoso saprofito que desempeña un papel esencial en la degradación de la materia orgánica. Su hábitat natural es el suelo donde sobrevive y se desarrolla sobre esta materia en descomposición. Estos microorganismos juegan un papel importante en el ciclo del carbono en el suelo ya que desdoblan el almidón. Intervienen en el ciclo del fósforo degradando compuestos carbonados y nitrogenados del suelo, y liberan el fósforo como fosfato asimilable por las plantas (Alcalá et al., 2015).

**Figura 3: A) Hifas y conidióforos de *Aspergillus* B) Esquema de conidióforo de *Aspergillus*.**

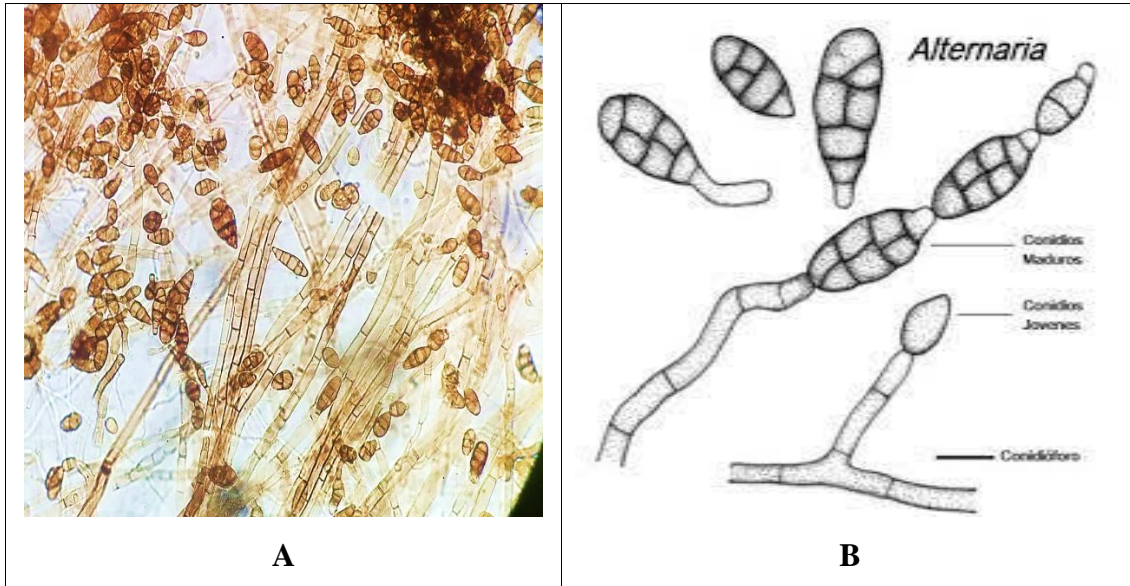


Fuente (Sánchez, 2022)

Mediante la captura de microorganismos con ayuda de trampas de arroz con melaza se pudo sembrar hongos por colores en un medio de cultivo PDA para su posterior identificación en el microscopio según las características morfológicas del hongo se logró identificar al género *Alternaria* se caracteriza por la formación de conidios polimórficos ya sean individuales o en cadenas cortas o largas, las cuales pueden ser transportadas por el aire, agua y permanecer en latencia en el suelo. Las conidias son de forma alargada, pequeñas y segmentadas, de forma elipsoide y septadas (figura 4). El cuerpo de las conidias puede estrecharse gradualmente hasta alcanzar la forma de un pico cónico (León, 2016). Al inicio de su crecimiento las

colonias son de color gris o verde olivo su consistencia es polvorienta y lanosa, después en el centro se oscurece, mientras sus bordes permanecen grisáceos y su reverso se pone de color negro (Guadalupe, 2020).

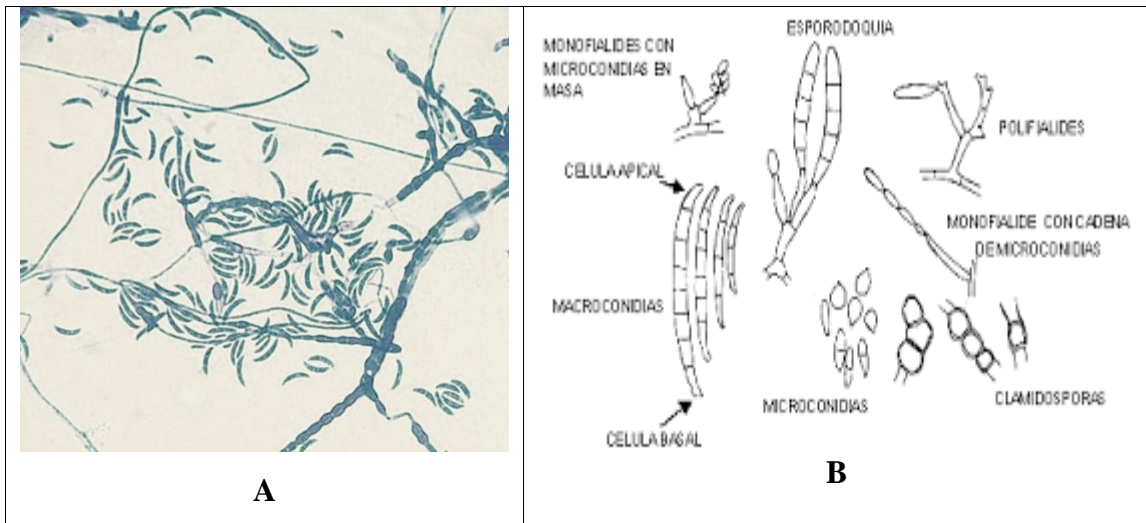
**Figura 4:** A) Conidios del género *Alternaria* B) Esquema de conidios de género *Alternaria*.



Fuente (Sánchez, 2022)

Mediante la siembra de hongos en medios de cultivo PDA se logró identificar al género *Fusarium* por lo que nos basamos en las características microscópicas observadas como las células conidiógenas son fiálides simples o ramificadas, a menudo finas y afiladas o con forma de botella. Las esporas pueden salir de un sólo orificio (monofiálides) o de varios (polifiálides). La célula apical es alargada y la basal tiene forma de pie. Se producen en sucesión basipetal a partir de las monofiálides. También pueden ser producidas en esporodocias, que pueden tener monofiálides o polifiálides. En ocasiones recuerdan a un racimo de plátanos (figura 5). El color que desarrollan depende de la especie y puede ser blanquecino, crema, anaranjado, rosa, rojizo, púrpura, etc. Estas coloraciones también pueden variar según los diferentes medios de cultivo. El micelio aéreo suele ser abundante y de aspecto algodonoso. La velocidad de crecimiento, la morfología y la pigmentación de la colonia son datos importantes para la identificación (Monzón & Rodríguez, 2013). El medio de cultivo PDA es útil y esencial para valorar el aspecto morfológico y la coloración de la colonia. Su alto contenido en carbohidratos condiciona un mayor crecimiento, en detrimento de la esporulación que suele retrasarse hasta un mes. Las conidias pueden ser atípicas.

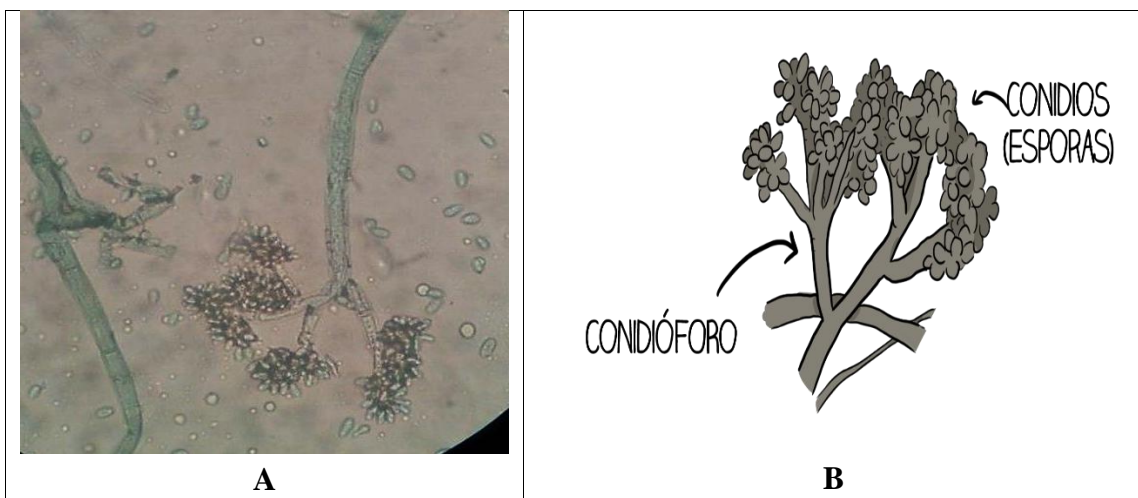
**Figura 5: A) Macroconidias y esporodocio de *Fusarium* B) Esquema morfológico del género *Fusarium*.**



Fuente (Sánchez, 2022)

En la identificación de microorganismos nos encontramos con el género *Botrytis* en las dos terrazas agrícolas sus características de este hongo es que produce gran cantidad de micelio gris y varios conidióforos largos y ramificados, cuyas células apicales redondeadas producen racimos de conidios ovoides, unicelulares, incoloros o de color gris. Los conidióforos y los racimos de conidios se asemejan a un racimo de uvas. El hongo libera fácilmente sus conidios cuando el clima es húmedo y luego éstos son diseminados por el viento. El hongo a menudo produce esclerocios irregulares, planos, duros y de color negro (figura 6). *Botrytis* inverna en el suelo en forma de esclerocios o de micelio, el cual se desarrolla sobre restos de plantas en proceso de descomposición (Biché, 2019).

**Figura 6: A) Conidióforos de *Botrytis* B) Esquema de conidióforo de *Botrytis*.**



Fuente (Sánchez, 2022)

## 12.2 Tinción de Gram Para Identificación De Bacterias

En la figura 7 se muestra un género de bacteria localizado en las terrazas agrícolas como es *Clostridium*, se trata de bacilos grampositivos, parásitos y saprófitos. Algunos de esos géneros esporulan y son móviles. Toman la forma de un fósforo, de un palillo de tambor o de un huso de hilar. Esta bacteria se logró identificar con ayuda de la tinción de Gram con muestras sembradas en un medio de cultivo PCA que es específicamente para recuento en placa y adecuado para determinar el recuento bacteriano. La tinción es un método sencillo para incrementar el contraste entre la célula y su entorno y por lo tanto contribuye a mejorar la imagen observada. Las técnicas de tinción con diversos colorantes facilitan la observación al aumentar notablemente el contraste (TORRES, 2011).

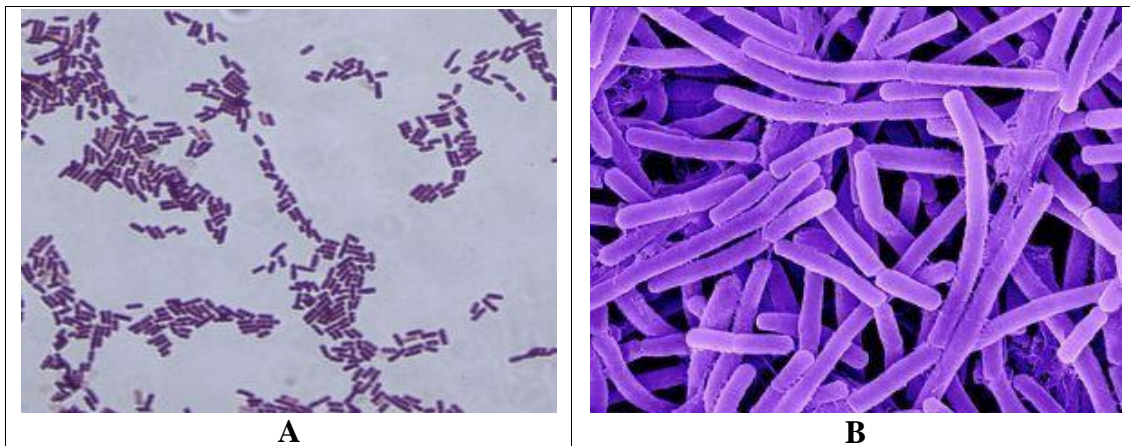
*Figura 7: A) Vista microscópica de Clostridium. B) forma del género de la bacteria Clostridium.*



Fuente (Sánchez, 2022)

Los microorganismos, concretamente las bacterias, pueden observarse directamente al microscopio de campo claro. En la figura 8 se observa el género *Bacillus* encontradas en las terrazas de banco es un género de bacterias en forma de bastón y gram positiva. Todas las tinciones se realizan a partir de suspensiones de microorganismos extendidas en un portaobjetos (frotis), secadas y fijadas. La fijación, procedimiento que permite preservar estructuras celulares. El PCA tiene alta productividad, está basada en el alto contenido nutricional de sus componentes, que permite el desarrollo de las bacterias presentes en la muestra (Calvo & Zúñiga, 2010).

**Figura 8:** A) Vista microscópica de *Bacillus*. B) forma del género de la bacteria *Bacillus*.



Fuente (Sánchez, 2022)

### 12.3 Prueba T de Student para medias de dos muestras emparejadas en hongos y bacterias

En la tabla 6 se utilizó una prueba T para realizar una comparación entre dos terrazas agrícolas y saber si existe significancia en lo que respecta a colonización de (hongos) las medias en caso de la terraza 8 con mayor significancia fue de 77,9375 y para la terraza 7 que obtuvo una media inferior de 60,1875 por cada 10 gramos de suelo obtenidas de cada terraza en diferentes lugares al azar con lo que podemos concluir que si hay una diferencia significativa en ambas terrazas. Se contó con 16 observaciones con un coeficiente de correlación de Pearson 0,43846001 con 15 grados de libertad y el valor de la prueba de dos colas fue de 0,000713999 que fue menor al p valor alfa de 0,05 con lo cual podemos asegurar que existe variación significativa en los resultados por lo tanto es una hipótesis alternativa con lo que podemos concluir que si existe una diferencia en las dos terrazas agrícolas. Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos. La diversidad metabólica de los microorganismos es muy amplia; por ello, la variedad de medios de cultivo es también muy grande, no existiendo un medio de cultivo universal adecuado para todos ellos. La cuantificación de microorganismos es un elemento crítico en los estudios de microbiología. No solo es importante conocer al responsable de un efecto benéfico o identificar al microorganismo potencial de causar alguna contaminación severa, sino también es importante saber el número de microorganismos implicados, para

establecer si éstos serán capaces de desarrollar una función benéfica o perjudicial (Parra, 2017).

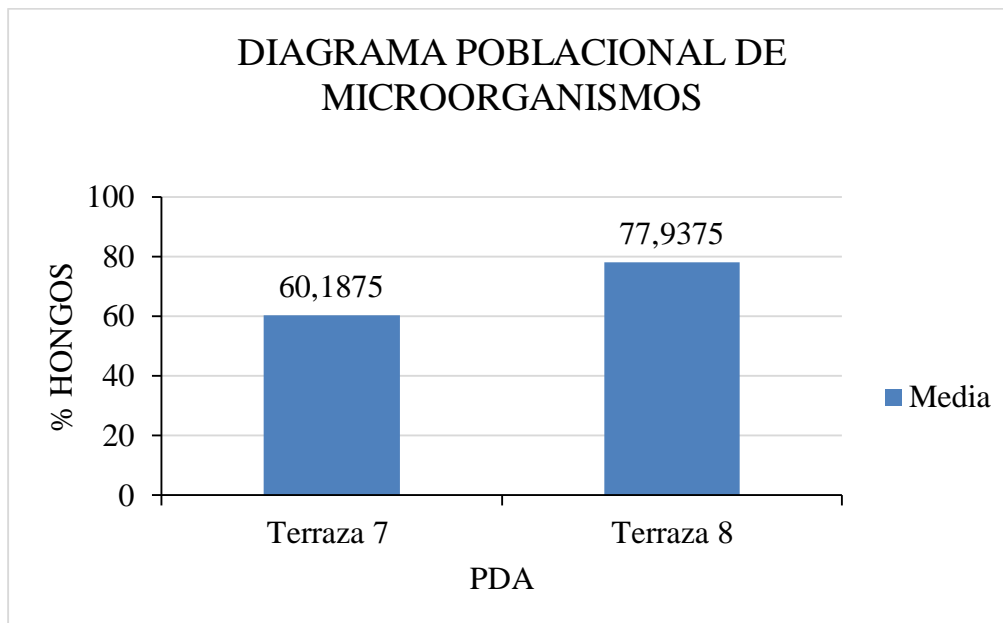
*Tabla 5: tabla de datos en una prueba t para medias de dos muestras emparejadas en medios de cultivo agar PDA para hongos.*

<b>Prueba T para medias de dos muestras emparejadas</b>		
	<b>Terraza 7</b>	<b>Terraza 8</b>
<b>Media</b>	60,1875	77,9375
<b>Varianza</b>	172,9958333	310,8625
<b>Observaciones</b>	16	16
<b>Coefficiente de correlación de Pearson</b>	0,43846001	
<b>Diferencia hipotética de las medias</b>	0	
<b>Grados de libertad</b>	15	
<b>Estadístico t</b>	-4,239278182	
<b>P(T&lt;=t) una cola</b>	0,000356999	
<b>Valor crítico de t (una cola)</b>	1,753050356	
<b>P(T&lt;=t) dos colas</b>	0,000713999	
<b>Valor crítico de t (dos colas)</b>	2,131449546	

Fuente (Sánchez, 2022)



**Figura 9: Medias de la variable porcentaje de poblacional de microorganismos *Aspergillus* en las dosis en la terraza de banco número 7.**



**Fuente** (Sánchez, 2022)

En la tabla 7 se utilizó una prueba T para realizar una comparación entre dos terrazas agrícolas y saber si existe significancia en lo que respecta a colonización de bacterias las medias en caso de la terraza 8 con mayor significancia fue de 171,1875 y para la terraza 7 que obtuvo una media inferior de 130,3125 por lo tanto por cada 10 gramos de suelo obtenidas de cada terraza en diferentes lugares al azar con lo que se pudo concluir que si hay una diferencia significativa en ambas terrazas (Gráfico 10). Se contó con 16 observaciones con un coeficiente de correlación de Pearson 0,765432145 con 15 grados de libertad y el valor de la prueba de dos colas fue de 0,000503804 que fue menor al p valor alfa de 0,05 con lo cual podemos asegurar que existe variación significativa en los resultados por lo tanto es una hipótesis alternativa con lo que se pudo concluir que si existe una diferencia en las dos terrazas agrícolas. El recuento en placa es uno de los métodos más utilizados para determinar cuál es el número de microorganismos viables en un medio líquido. El recuento en placa por siembra en superficie que consiste en la siembra de un volumen conocido de la dilución de la muestra sobre la superficie de un medio de cultivo en placa Petri. En este método todas las colonias crecen sobre la superficie del medio. Generalmente se utiliza esta técnica para el recuento de bacterias aerobias. Cuando la concentración es baja se procede a filtrar la muestra a través de una membrana que será pasada al medio de

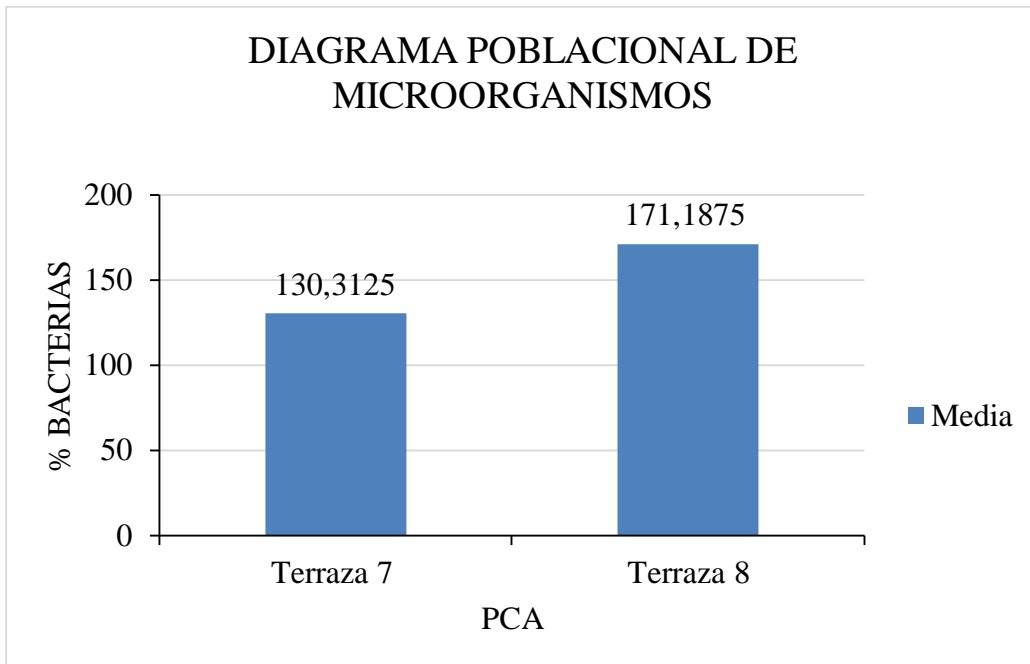
cultivo, en una placa de Petri. El crecimiento de una población bacteriana puede ser entendido desde diferentes perspectivas y de acuerdo a éstas se puede llegar a determinar la medida del crecimiento mediante diversas metodologías, el crecimiento implica el aumento de los microorganismos capaces de formar colonias debido a que sólo se tiene en cuenta el número de microorganismos viables, esto es capaces de crecer indefinidamente (Parra, 2017).

*Tabla 6: tabla de datos en una prueba t para medias de dos muestras emparejadas en medios de cultivo agar PCA para bacterias*

<b>Prueba T para medias de dos muestras emparejadas</b>		
	<b>Terraza 7</b>	<b>Terraza 8</b>
<b>Media</b>	130,3125	171,1875
<b>Varianza</b>	1653,295833	3289,629167
<b>Observaciones</b>	16	16
<b>Coefficiente de correlación de Pearson</b>	0,765432145	
<b>Diferencia hipotética de las medias</b>	0	
<b>Grados de libertad</b>	15	
<b>Estadístico t</b>	-4,41282554	
<b>P(T&lt;=t) una cola</b>	0,000251902	
<b>Valor crítico de t (una cola)</b>	1,753050356	
<b>P(T&lt;=t) dos colas</b>	0,000503804	
<b>Valor crítico de t (dos colas)</b>	2,131449546	

Fuente (Sánchez, 2022)

**Figura 10:** Medias de la variable porcentaje de poblacional de microorganismos *Aspergillus* en las dosis en la terraza de banco número 7.



**Fuente** (Sánchez, 2022)

## CAPITULO IV

### 13. CONCLUSIONES

Podemos concluir mediante la identificación de los microorganismos presentes en ambas terrazas que si existe diversidad microbiana con la identificación de bacterias y hongos. Se lograron identificar 8 géneros diferentes entre bacterias y hongos estos son: Fusarium, Botrytis, Alternaria, Beauveria, Trichoderma, Aspergillus, Bacillus, Clostridium, cada uno de ellos efectúan cargos que ayudan a la desintegración de la materia orgánica y a la vez ciertos microorganismos patógenos perjudican el estado del suelo hacia los cultivos, además alguno de ellos pueden contrarrestar a microorganismos perjudiciales como es Trichoderma que puede inhibir ciertas bacterias y hongos patógenos.

Podemos concluir que por cada 10gr de suelo de la terraza 8 se determinó el 77,93% de población mientras que la terraza 7 se obtuvo el 60,18% de los mismos por lo que existe una variación significativa en hongos mientras que, para bacterias también se obtuvo una variación significativa en la terraza ocho con el 171,18% y la terraza siete con 130,31% de población por lo tanto influyen directamente en los parámetros físicos y químicos del suelo.

### 14. RECOMENDACIONES

En futuras investigaciones se recomienda utilizar medios selectivos para poder identificar de mejor manera a los microorganismos en especial a las bacterias y conocer la diversidad existente en cada terraza.

Reemplazar parcialmente los fertilizantes químicos con aplicaciones de materia orgánica para la obtención de más colonización de organismos benéficos.

Para tener siembras exitosas de microorganismos en dos medios de cultivo para el recuento de colonias por el método de siembra en superficie se debe tener en cuenta el tiempo prolongado que se necesita para la preparación de los medios y el riesgo de contaminación por otros microorganismos que pueden afectar el medio de cultivo.

### 15. BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, M. A. (2015). *Microorganismos efectivos: su extracción y uso*. 6.

- <https://www.uv.mx/personal/asuarez/files/2011/02/Microorganismos-efectivos.pdf>
- Alcalá, L., Muñoz, P., Peláez, T., & Bouza, E. (2015). *Aspergillus* y aspergilosis. *Seimc*, 12(2), 77–78. [http://www.adiveter.com/ftp\\_public/articulo782.pdf](http://www.adiveter.com/ftp_public/articulo782.pdf)
- Arcos. (2000). *Tinción de Gram*. 4. [https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/35/35696/tincion\\_de\\_gram.pdf](https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/35/35696/tincion_de_gram.pdf)
- Biché, J. (2019). *Identificación y caracterización de aislados de Botrytis cinerea obtenidos desde flores atizonadas y frutos con pudrición calicinal cvs . Cripps Pink y Fuji*. 47. [http://dSPACE.utalca.cl/bitstream/1950/11902/2/biche\\_biche.pdf](http://dSPACE.utalca.cl/bitstream/1950/11902/2/biche_biche.pdf)
- Calidad, C. de. (2020). *PDA ( Potato Dextrose Agar ) Acid*. 2–3.
- Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA DE CEPAS de *Bacillus* spp. AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DE PAPA (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*, 9(1–2), 31. <https://doi.org/10.21704/rea.v9i1-2.393>
- Casa, F., & Clavijo, H. (2018). ESTUDIO DE LA OPTIMIZACIÓN DE LA CALIDAD DEL ABONO BOCASHI MEDIANTE LA ADICIÓN DE POTENCIALES MICROORGANISMOS EFICACES. *Universidad Técnica De Cotopaxi Facultad*, 1, 101. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4501/1/PI-000727.pdf>
- Echeverría-beirute, F. (2019). *Trabajo Final de Graduación- Caracterización Biológica Molecular Beauveria bassiana. May 2006*, 106. [https://www.researchgate.net/publication/271825762\\_CHARACTERIZACION\\_MORFOLOGICA\\_DE\\_BEAUVERIA\\_BASSIANA\\_AISLADA\\_DE\\_DIFERENTES\\_INSECTOS\\_EN\\_TRUJILLO- VENEZUELA#:~:text=Beauveria bassiana%2C es un hongo,de los patógenos más importantes.](https://www.researchgate.net/publication/271825762_CHARACTERIZACION_MORFOLOGICA_DE_BEAUVERIA_BASSIANA_AISLADA_DE_DIFERENTES_INSECTOS_EN_TRUJILLO- VENEZUELA#:~:text=Beauveria bassiana%2C es un hongo,de los patógenos más importantes.)
- Gómez, M. (2019). *Estudio de la degradación de suelos y tierras por desertificación en la jurisdicción de La Car*. <https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/7798/Trabajo de grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Guadalupe, M. G. A. (2020). *Detección de Alternaria en muestras ambientales del Valle de Toluca*. 87. <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/bitstream/123456789/2099/1/191146.pdf>

- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14–21. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v24n1/rpv02109.pdf>
- León, F. (2016). *Aislamiento, Caracterización Molecular y Análisis de Patogenicidad de Alternaria spp. sobre botones de Rosa (Rosa sp) y plantas de brócoli (Brassica oleracea var. Italica)*. 58. <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/6158/1/128912.pdf>
- Monzón, A., & Rodríguez, J. L. (2013). Infecciones causadas por el genero *Fusarium*. *Control de Calidad SEIMC*, 3, 1–6. <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/fusarium.pdf>
- Nogales, A. (2012). *MICROORGANISMOS EFICIENTES AUTÓCTONOS (EMAs)*. 99. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3289/1/Tesis-34agr.pdf>
- Parra, J. A. (2017). Análisis de técnicas de recuento de Microorganismos. *Mente Joven*, 6, 01–08. [https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/mente\\_joven/article/view/3665/3060](https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/mente_joven/article/view/3665/3060)
- Rodriguez, Natalia; Michael; Pennock, D. (2019). La contaminación del suelo: una realidad oculta. In *Organizacion de las Naciones Unidas para la alimentacion y la agricultura FAO*. <http://www.fao.org/3/I9183ES/i9183es.pdf>
- Rodríguez, P. A., & Arenas, y R. (2018). *Hans Christian Gram y su tinción*. 166–167. <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
- Sánchez, C. (2006). Microorganismos del suelo. *Edafología Ciencias Ambientales*, 1, 1–11.
- Scharlau. (2015). *PCA ( Plate Count Agar )*. 1–2. <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:OhldB95qzDEJ:https://www.medioscultivo.com/plate-count-agar-pca/+&cd=13&hl=es&ct=clnk&gl=ec>
- Servicio Agrícola Ganadero (SAG). (2021). Agricultura orgánica nacional: Bases Técnicas y Situación Actual. *Agricultura Orgánica Nacional*, 2(1), 1–14.
- Soil, B., & Es, E. N. V. (2012). Microorganismos del suelo y biofertilización. *Vida Sana*, 1/43.
- TITTO, X. C. (2020). *Identificación Y Clasificación De Microorganismos Eficientes Del Suelo , En la estación experimental Patacamaya*. 1–139.
- TORRES, J. S. F. (2011). AISLAMIENTO E IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE

CLOSTRIDIOS PATÓGENOS PRESENTES EN MUESTRAS DE SUELOS DE PREDIOS GANADEROS AFECTADOS POR LA OLA INVERNAL EN EL MUNICIPIO DE MOSQUERA – DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA. *Phys. Rev. E*, 47. <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/7130/1/LUZARDO-BUIATRIA-2017.pdf>

Vásquez, M. (2017). *Bases técnicas para evaluar la calidad del suelo. I* (January 2010), 1–19.

Vega Acosta, J. P., & Díaz, Y. (2016). Evaluación de microorganismos nativos en el proceso de degradación de materia orgánica en compostaje del Relleno Sanitario en el GAD del Cantón de la Joya de los Sachas. *Facultad de Ciencias, Bachelor*, 99. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4949>

Vélez, B. (2015). Utilización de cuatro sustratos para la captura de microorganismos eficientes autóctonos de montaña en una zona protegida en la Parroquia Patricia Pilar año 2019. In *Scielo.Sld.Cu* (Vol. 2020, Issue 1715958359). <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/671/1/T-UTEQ-0038.pdf>

Aguilar, M. A. (2015). *Microorganismos efectivos: su extracción y uso*. 6. <https://www.uv.mx/personal/asuarez/files/2011/02/Microorganismos-efectivos.pdf>

Alcalá, L., Muñoz, P., Peláez, T., & Bouza, E. (2015). Aspergillus y aspergilosis. *Seimc*, 12(2), 77–78. [http://www.avideter.com/ftp\\_public/articulo782.pdf](http://www.avideter.com/ftp_public/articulo782.pdf)

Arcos. (2000). *Tinción de Gram*. 4. [https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/35/35696/tincion\\_de\\_gram.pdf](https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/35/35696/tincion_de_gram.pdf)

Biché, J. (2019). *Identificación y caracterización de aislados de Botrytis cinerea obtenidos desde flores atizonadas y frutos con pudrición calicinal cvs . Cripps Pink y Fuji*. 47. [http://dspace.otalca.cl/bitstream/1950/11902/2/biche\\_biche.pdf](http://dspace.otalca.cl/bitstream/1950/11902/2/biche_biche.pdf)

Calidad, C. de. (2020). *PDA ( Potato Dextrose Agar ) Acid*. 2–3.

Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA DE CEPAS de Bacillus spp. AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DE PAPA (Solanum tuberosum). *Ecología Aplicada*, 9(1–2), 31. <https://doi.org/10.21704/rea.v9i1-2.393>

Casa, F., & Clavijo, H. (2018). ESTUDIO DE LA OPTIMIZACIÓN DE LA CALIDAD DEL ABONO BOCASHI MEDIANTE LA ADICIÓN DE POTENCIALES

- MICROORGANISMOS EFICACES. *Universidad Técnica De Cotopaxi Facultad, 1*, 101. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4501/1/PI-000727.pdf>
- Echeverría-beirute, F. (2019). *Trabajo Final de Graduación- Caracterización Biológica Molecular Beauveria bassiana. May 2006*, 106. [https://www.researchgate.net/publication/271825762\\_CHARACTERIZACION\\_MORFOLOGICA\\_DE\\_BEAUVERIA\\_BASSIANA\\_AISLADA\\_DE\\_DIFERENTES\\_INSECTOS\\_EN\\_TRUJILLO-\\_VENEZUELA#:~:text=Beauveria+bassiana%2C+es+un+hongo,de+los+patógenos+más+importantes.](https://www.researchgate.net/publication/271825762_CHARACTERIZACION_MORFOLOGICA_DE_BEAUVERIA_BASSIANA_AISLADA_DE_DIFERENTES_INSECTOS_EN_TRUJILLO-_VENEZUELA#:~:text=Beauveria+bassiana%2C+es+un+hongo,de+los+patógenos+más+importantes.)
- Gómez, M. (2019). *Estudio de la degradación de suelos y tierras por desertificación en la jurisdicción de La Car.* [https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/7798/Trabajo de grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/7798/Trabajo+de+grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Guadalupe, M. G. A. (2020). *Detección de Alternaria en muestras ambientales del Valle de Toluca.* 87. <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/bitstream/123456789/2099/1/191146.pdf>
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14–21. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v24n1/rpv02109.pdf>
- León, F. (2016). *Aislamiento, Caracterización Molecular y Análisis de Patogenicidad de Alternaria spp. sobre botones de Rosa (Rosa sp) y plantas de brócoli (Brassica oleracea var. Italica).* 58. <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/6158/1/128912.pdf>
- Monzón, A., & Rodríguez, J. L. (2013). Infecciones causadas por el género Fusarium. *Control de Calidad SEIMC*, 3, 1–6. <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/fusarium.pdf>
- Nogales, A. (2012). *MICROORGANISMOS EFICIENTES AUTÓCTONOS (EMAs).* 99. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3289/1/Tesis-34agr.pdf>
- Parra, J. A. (2017). Análisis de técnicas de recuento de Microorganismos. *Mente Joven*, 6, 01–08. [https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/mente\\_joven/article/view/3665/3060](https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/mente_joven/article/view/3665/3060)
- Rodríguez, Natalia; Michael; Pennock, D. (2019). La contaminación del suelo: una realidad



- oculta. In *Organizacion de las Naciones Unidas para la alimentacion y la agricultura FAO*. <http://www.fao.org/3/I9183ES/i9183es.pdf>
- Rodríguez, P. A., & Arenas, y R. (2018). *Hans Christian Gram y su tinción*. 166–167. <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
- Sánchez, C. (2006). Microorganismos del suelo. *Edafología Ciencias Ambientales, 1*, 1–11.
- Scharlau. (2015). *PCA ( Plate Count Agar )*. 1–2. <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Ohldb95qzDEJ:https://www.medioscultivo.com/plate-count-agar-pca/+&cd=13&hl=es&ct=clnk&gl=ec>
- Servicio Agrícola Ganadero (SAG). (2021). Agricultura orgánica nacional: Bases Técnicas y Situación Actual. *Agricultura Orgánica Nacional, 2*(1), 1–14.
- Soil, B., & Es, E. N. V. (2012). Microorganismos del suelo y biofertilización. *Vida Sana, 1*/43.
- TITTO, X. C. (2020). *Identificación Y Clasificación De Microorganismos Eficientes Del Suelo , En la estación experimental Patacamaya*. 1–139.
- TORRES, J. S. F. (2011). AISLAMIENTO E IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE CLOSTRIDIOS PATÓGENOS PRESENTES EN MUESTRAS DE SUELOS DE PREDIOS GANADEROS AFECTADOS POR LA OLA INVERNAL EN EL MUNICIPIO DE MOSQUERA – DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA. *Phys. Rev. E, 47*. <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/7130/1/LUZARDO-BUIATRIA-2017.pdf>
- Vásquez, M. (2017). *Bases técnicas para evaluar la calidad del suelo. 1*(January 2010), 1–19.
- Vega Acosta, J. P., & Díaz, Y. (2016). Evaluación de microorganismos nativos en el proceso de degradación de materia orgánica en compostaje del Relleno Sanitario en el GAD del Cantón de la Joya de los Sachas. *Facultad de Ciencias, Bachelor, 99*. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4949>
- Vélez, B. (2015). Utilización de cuatro sustratos para la captura de microorganismos eficientes autóctonos de montaña en una zona protegida en la Parroquia Patricia Pilar año 2019. In *Scielo.Sld.Cu* (Vol. 2020, Issue 1715958359). <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/671/1/T-UTEQ-0038.pdf>

# ANEXOS

**Anexo 1:** pesado de muestras en cada tarrina con 123 gr de arroz precocido 4 minutos cada una para su posterior sellado con medias nylon para realizar el ahoyado a unos 20 cm.



**Anexo 2:** Colocación de las muestras de arroz y cubierta con plástico y materia organica durante 8 días.



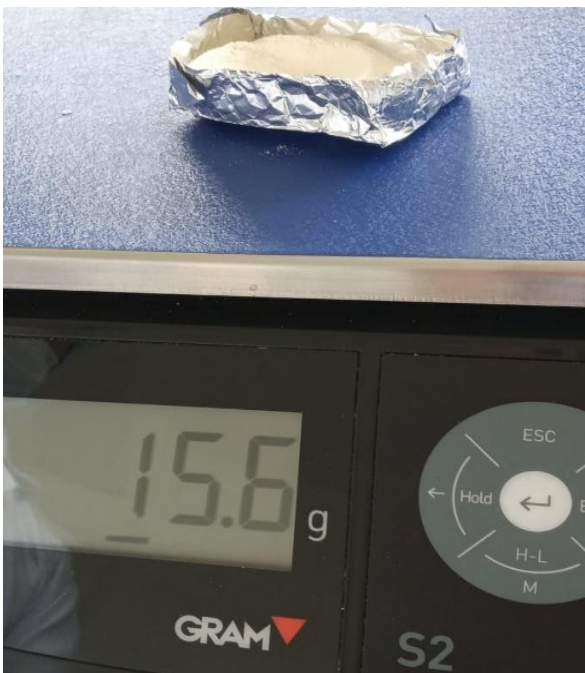
**Anexo 3:** Visualización y toma de datos de la terraza 8.



**Anexo 4:** Visualización y toma de datos de la terraza 7



**Anexo 5:** Pesado y realización del medio de cultivo PDA para el cultivo de los microorganismos.

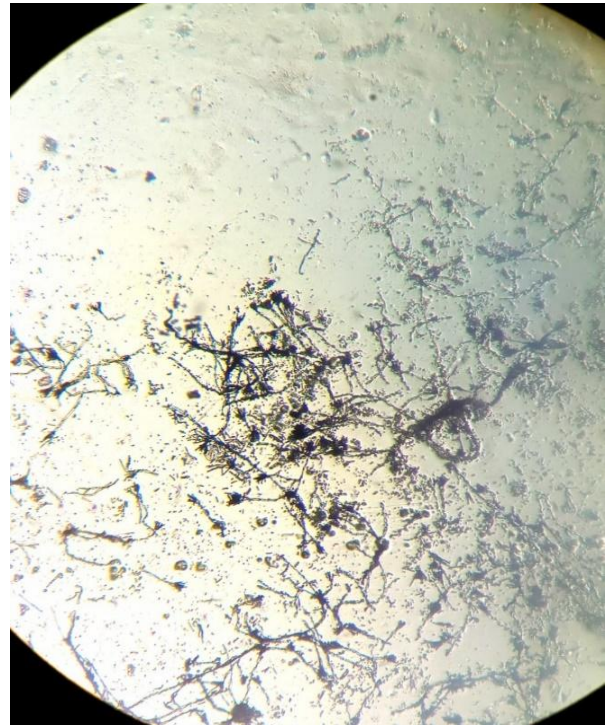
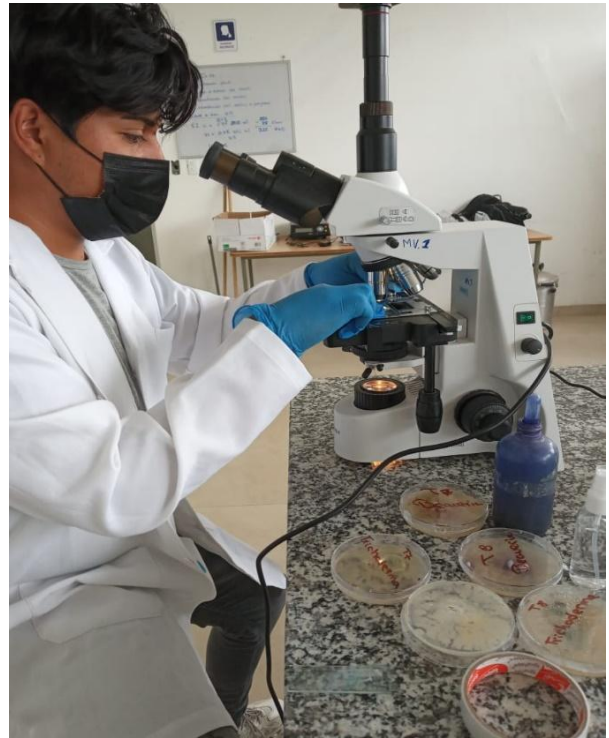


**Anexo 6:** Preparación de cajas Petri con PDA y PCA en la cámara de flujo laminar posterior siembra de cultivos con ayuda de un asa de siembra y un mechero para esterilizar y evitar contaminación y etiquetado de cada muestra.





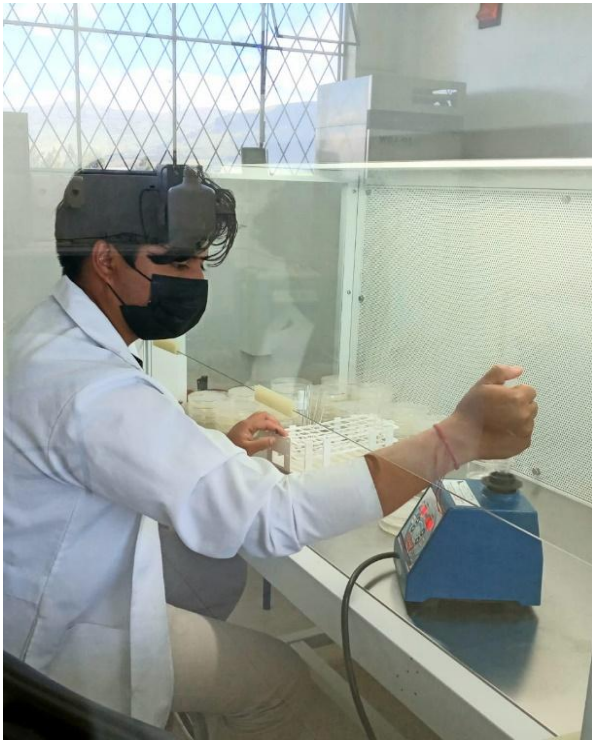
**Anexo 7:** Identificación por medio de microscopio de los diferentes microorganismos encontrados en las dos terrazas 7 y 8 y con ayuda de bibliografía



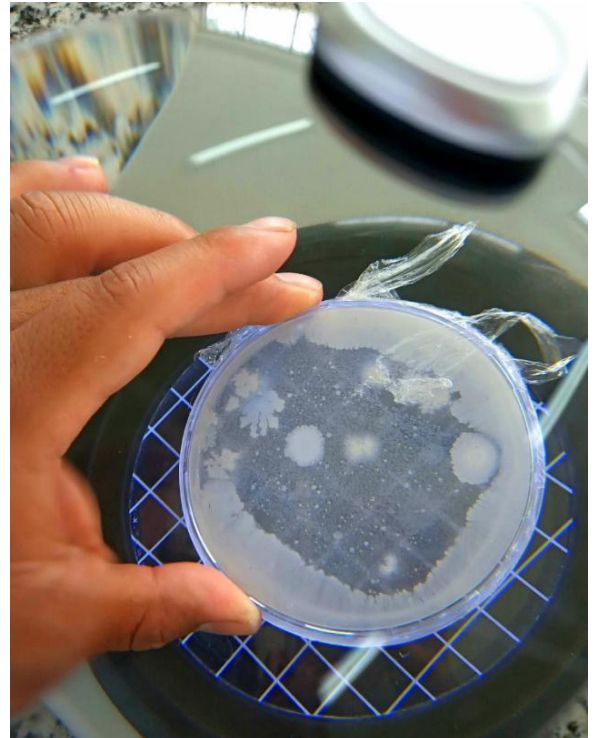
**Anexo 8:** Preparación de medios de cultivo PDA y PCA para realizar el conteo de microorganismos y bacterias encontradas en la terraza 7 y 8 por medio de muestras de tierra.



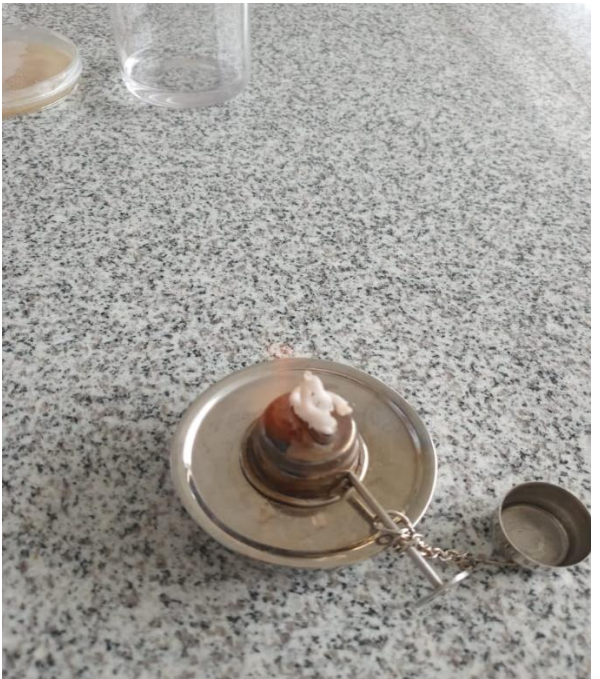
**Anexo 9:** Siembra de los microorganismos obtenidos de las muestras de tierra en cada terraza posterior etiquetado para mandar a la incubadora por 48 horas.



**Anexo 10:** Conteo de colonias de microorganismos con ayuda de un contador de colonias y su posterior tabulación de datos en Exel y se realizó una prueba T.



**Anexo11: Preparación de materiales para realizar la tinción de Gram.**



**Anexo 12 :** Proceso por pasos para la realización de la tinción de Gram y su posterior observación en microscopio.



**Anexo 13:** Registro de datos tabulados con 16 repeticiones y los 4 tratamientos durante todo el proceso investigativo de la Terraza 7 y 8 de un medio de cultivo PDA.

TERRAZA 7			PDA	TERRAZA 8		
T1R1	42			T1R1	72	
T1R1	47	44,5		T1R1	66	69
T2R1	46			T2R1	75	
T2R1	51	48,5		T2R1	82	78,5
T3R1	48			T3R1	96	
T3R1	53	50,5		T3R1	102	99
T4R1	35			T4R1	58	
T4R1	45	40		T4R1	62	60
T1R2	46			T1R2	65	
T1R2	45	45,5		T1R2	76	70,5
T2R2	54			T2R2	77	
T2R2	69	61,5		T2R2	84	80,5
T3R2	74			T3R2	116	
T3R2	70	72		T3R2	93	104,5
T4R2	78			T4R2	48	
T4R2	81	79,5		T4R2	59	53,5
T1R3	63			T1R3	72	
T1R3	69	66		T1R3	61	66,5
T2R3	65			T2R3	83	
T2R3	71	68		T2R3	97	90
T3R3	78			T3R3	103	
T3R3	75	76,5		T3R3	108	105,5
T4R3	55			T4R3	68	
T4R3	53	54		T4R3	58	63
T1R4	46			T1R4	66	
T1R4	64	55		T1R4	84	75
T2R4	62			T2R4	71	
T2R4	74	68		T2R4	84	77,5
T3R4	78			T3R4	95	
T3R4	81	79,5		T3R4	102	98,5
T4R4	55			T4R4	55	
T4R4	46	50,5		T4R4	46	50,5

**Anexo 14:** Registro de datos tabulados con 16 repeticiones y los 4 tratamientos durante todo el proceso investigativo de la Terraza 7 y 8 de un medio de cultivo PCA.

TERRAZA 7			PCA	TERRAZA 8		
T1R1	67	72,5	T1R1	76	74,5	
T1R1	78		T1R1	73		
T2R1	123	112	T2R1	84	90,5	
T2R1	101		T2R1	97		
T3R1	57	93,5	T3R1	101	121	
T3R1	130		T3R1	141		
T4R1	128	277	T4R1	184	198	
T4R1	426		T4R1	212		
T1R2	212	134,5	T1R2	147	125	
T1R2	57		T1R2	103		
T2R2	89	96	T2R2	108	143,5	
T2R2	103		T2R2	179		
T3R2	201	180	T3R2	122	159	
T3R2	159		T3R2	196		
T4R2	162	172,5	T4R2	235	246	
T4R2	183		T4R2	257		
T1R3	142	130,5	T1R3	161	136,5	
T1R3	119		T1R3	112		
T2R3	95	109,5	T2R3	124	169	
T2R3	124		T2R3	214		
T3R3	103	101	T3R3	226	175	
T3R3	99		T3R3	124		
T4R3	160	196,5	T4R3	137	224,5	
T4R3	233		T4R3	312		
T1R4	95	90	T1R4	189	148	
T1R4	85		T1R4	107		
T2R4	102	110	T2R4	222	169	
T2R4	118		T2R4	116		
T3R4	123	150,5	T3R4	259	274	
T3R4	178		T3R4	289		
T4R4	204	196,5	T4R4	150	158,5	
T4R4	189		T4R4	167		