



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS**  
**NATURALES**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**Título:**

---

**“EVALUACIÓN DE DOS CEPAS (COTOPAXI Y TUNGURAHUA) DE  
RHIZOBIUM SPP A DOS DOSIS EN (*Lupinus mutabilis Sweet*) VAR. INIAP-451  
(GUARANGUITO), CEASA – COTOPAXI. 2022”**

---

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

**Autor:**  
Chango Taco Alex Roberto

**Tutora:**  
Parra Gallardo Giovana Paulina Ing. Mg.

**LATACUNGA – ECUADOR**

**Marzo 2022**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Alex Roberto Chango Taco, con cedula de ciudadanía No. 0503565111, declaro ser autor del presente proyecto de investigación: “Evaluación de dos cepas (Cotopaxi y Tungurahua) de *Rhizobium* spp a dos dosis en (*Lupinus mutabilis Sweet*) Var. INIAP-451 (Guaranguito), CEASA- Cotopaxi. 2022”, siendo la Ingeniera Mg. Giovana Paulina Parra Gallardo, 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, 11 de marzo del 2022

Alex Roberto Chango Taco  
Estudiante  
C.C: 050356511-1

Ing. Mg. Giovana Paulina Parra Gallardo  
Docente Tutora  
C.C: 180226703-7

## 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 **CHANGO TACO ALEX ROBERTO**, identificado con cedula de ciudadanía **0503565111**, de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. 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 “Evaluación de dos cepas (Cotopaxi y Tungurahua) de *Rhizobium* spp a dos dosis en (*Lupinus mutabilis Sweet*) Var. INIAP-451 (Guaranguito), CEASA- Cotopaxi. 2022”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

### **Historial académico.**

Inicio de la carrera: octubre 2016 – marzo 2017

Finalización de la carrera: octubre 2021 – marzo 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 20 de mayo del 2021

Tutor. - Ing. Mg. Sc. Giovana Paulina Parra Gallardo

Tema: “Evaluación de dos cepas (Cotopaxi y Tungurahua) de *Rhizobium* spp a dos dosis en (*Lupinus mutabilis Sweet*) Var. INIAP-451 (Guaranguito), CEASA- Cotopaxi. 2022”.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 11 días del mes de marzo del 2022.

Alex Roberto Chango Taco  
**EL CEDENTE**

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez  
**LA CESIONARIA**

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

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

**“EVALUACIÓN DE DOS CEPAS (COTOPAXI Y TUNGURAHUA) DE RHIZOBIUM SPP A DOS DOSIS EN (*Lupinus mutabilis Sweet*) VAR. INIAP-451 (GUARANGUITO), CEASA-COTOPAXI. 2022”**, de Chango Taco Alex Roberto, 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, 11 de marzo 2022

Ing. Mg. Giovana Paulina Parra Gallardo  
**DOCENTE TUTORA**  
CC: 180226703-7

## **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: Chango Taco Alex Roberto, con el título de Proyecto de Investigación: **“EVALUACIÓN DE DOS CEPAS (COTOPAXI Y TUNGURAHUA) DE RHIZOBIUM SPP A DOS DOSIS EN (*Lupinus mutabilis Sweet*) VAR. INIAP-451 (GUARANGUITO), CEASA- COTOPAXI. 2022”**, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al actor de sustentación de proyecto de titulación.

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

Latacunga, 11 de marzo 2022

Lector 1 (Presidente)  
Ing. Mg. Francisco Hernán Chancusig  
CC: 0501883920

Lector 2  
Ing. Mg. Wilman Paolo Chasi Vizuete  
CC: 0502409725

Lector 3  
Ing. Ph.D. Carlos Javier Torres Miño  
CC: 0502329238

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por concederme la oportunidad de culminar mi carrera ya que él me brindo salud y fortaleza para no decaer en el camino a lo largo de mi vida, agradezco a la vida por esta oportunidad de pertenecer a este maravilloso mundo, en especial a mis padres ya que desde siempre me han apoyado con su cariño incondicional cuando más lo necesite a pesar de las caídas, que si no fuera por ustedes no estaría obteniendo una vida profesional. A mis hermanos Héctor, Myriam, Ivonne y Consuelo por la paciencia y consejos, a todos los amigos y personas que me han apoyado de una u otra manera ya que fueron motivación en mi vida.

Un agradecimiento a la Universidad Técnica de Cotopaxi por brindarme la pertinencia de fomentar mis conocimientos sobre la carrera de Ingeniería Agronómica y la oportunidad de obtener un título profesional, a los ingenieros Giovana Parra, Paolo Chasi, en especial a la Ing. Tannya Llanos ya que con paciencia, dedicación y motivación, inculco en mí fortaleza para enfrentar cualquier problemas que se presente, convirtiéndose en una persona de gran ayuda y apoyo fundamental para la elaboración de la presente tesis.

*Alex Roberto Chango Taco*

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo principalmente a Dios por la oportunidad de aun seguir vivo y terminar esta carrera universitaria y permitirme el haber llegado a este momento más importante de mi vida.

Este trabajo también lo dedico a una persona en especial, a la Ing. Liliana Amaya, ya que fue la persona que confió en mí desde el principio de mis estudios, esa confianza que me diste e inculcaste en mí el valor de la confianza, en confiar, creer y amarse a uno mismo, es ese valor moral la que me motivo llegar lejos sin esperarlo, tus palabras de aliento, lucha y paciencia hacia mí, fue lo que me permitió culminar con mi carrera universitaria y ahora sí puedo decirte, lo conseguimos con éxito y de todo corazón te digo gracias por todo, gracias por la oportunidad que me diste.

A mi padre José Chango y mi madre María Taco, son los mejores padres que puedo tener, han luchado con trabajos duros para pagarme la universidad, pero ya es tiempo de decirles vámonos de viaje yo pago, gracias por apoyarme económicamente siempre estaré agradecido y los llevo en mi corazón y vida, LOS AMO mis viejitos.

*Alex Roberto Chango Taco*

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**TITULO: “EVALUACIÓN DE DOS CEPAS (COTOPAXI Y TUNGURAHUA) DE RHIZOBIUM SPP A DOS DOSIS EN (*LUPINUS MUTABILIS SWEET*) VAR. INIAP-451 (GUARANGUITO), CEASA- COTOPAXI. 2022”**

AUTOR: Chango Taco Alex Roberto

**RESUMEN**

Esta investigación tuvo como finalidad el estudio de la bacteria Rhizobium spp. Provenientes de dos provincias (C y T). Para realizar la multiplicación y obtener el número de las UFC de cada una y utilizarlas como inoculantes en la semilla del *Lupinus mutabilis Sweet* var. INIAP 451 a dos dosis (1cc y 2cc) con el método de sumersión, esto con el objetivo de comprobar adaptabilidad, incremento de nódulos en la raíz (FBN) y la interacción de la bacteria en la fase inicial del cultivo, realizado en la Universidad Técnica de Cotopaxi sector Salache (CEASA), aplicando un diseño experimental DBCA completamente al azar, con arreglo factorial de 2x2+1 con tres repeticiones, con análisis de varianza ADEVA para los tratamientos y para resultados significativos la prueba Tukey al 5%. Donde, germinación los resultados obtenidos para las dos cepas fue en los días 11 con 81,92% y en el día 12 con un promedio del 100%. En altura de planta existe diferencia entre tratamientos y testigos, en el día 14 con un rango de 6,2. Mientras que al cumplir los 23 días la altura fue similar hasta el día 76 con rangos de: día 23; 9,52 y día 76; 25,11. Diámetro de tallo, existió diferencias significativas, demostrando que la dosis D1 fue más firme con una media de 4,73 en el día 51, mientras que la D2 en el mismo día obtuvo un rango de 4,29, al cumplir el día 76 el diámetro se regulo a excepto de los testigos que tenía la media de 0,31 en el día 71. Número de hojas, el de mayor significancia fue la dosis D1 con una media de 4,47 a los 23 días y de 14,19 a los 76 días ubicándose en rango (A), para los nódulos el mejor resultado en dosis inoculado fue la C2D1, presentando a los 77 días una media de 2,11 ubicándose en rango (A) con un número total de 26 nódulos y raíces vigorosas para el tratamiento (C2D1). Este cultivo se realizó en condiciones controladas a 25 a 30 °C con la HR del 21%.

**Palabras clave:** Dosis, Inoculación, *Lupinus*, Rhizobium, Nódulos, FBN, Fenología.

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

**THEME: "EVALUATION OF TWO STRAINS (COTOPAXI AND TUNGURAHUA) OF RHIZOBIUM SPP AT TWO DOSES IN (LUPINUS MUTABILIS SWEET) VAR. INIAP-451 (GUARANGUITO), CEASA-COTOPAXI. 2022".**

AUTHOR: Chango Taco Alex Roberto

**ABSTRACT**

This research aimed to study the Rhizobium spp. bacteria from two provinces (C and T) to multiply and obtain the number of CFU of each one and use them as inoculants in the seed of Lupinus mutabilis Sweet var. INIAP 451 at two doses (1cc and 2cc) with the submersion method to check adaptability, an increase of root nodules (FBN), and the interaction of the bacteria in the initial phase of the crop, carried out at the Technical University of Cotopaxi Salache sector (CEASA), applying an utterly randomized DBCA experimental design, with 2x2+1 factorial arrangement with three replications, with ADEVA analysis of variance for the treatments and significant results the Tukey test at 5%. Where germination results obtained for the two strains were on day 11 with 81.92% and day 12 with an average of 100%. In-plant height, there was a difference between treatments and controls on day 14 with a range of 6.2. At 23 days, plant height was similar up to day 76, with ranges of 9.52 on day 23 and 25.11 on day 76. Stem diameter, there were significant differences, showing the D1 dose was firmer with a mean of 4.73 on day 51, while the D2 on the same day obtained the range of 4.29; on day 76, the diameter was regulated except for the control, which had a mean of 0.31 on day 71. The most significant number of leaves was the dose D1, with a mean of 4.47 at 23 days and 14.19 at 76 days, ranking (A). For nodules, the best result in inoculated dose was C2D1, presenting at 77 days with a mean of 2.11, ranking (A) with 26 nodules and vigorous roots for the treatment (C2D1). This crop was grown under controlled conditions at 25 to 30 °C with an RH of 21%.

**Keywords:** Dosage, Inoculation, Lupinus, Rhizobium, Nodules, FBN, phenology.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

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
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT .....	x
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	3
3. PROBLEMÁTICA.....	4
4. JUSTIFICACIÓN.....	5
5. BENEFICIARIOS .....	5
6. OBJETIVOS: .....	6
6.1. Objetivo General.....	6
6.2. Objetivos Específicos.....	6
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS CON RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	7
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	8
8.1. Generalidades del cultivo de Chocho ( <i>Lupinus mutabilis Sweet</i> ).....	8
8.2. Clasificación taxonómica.....	9
8.3. Ventajas del cultivo de chocho.....	9
8.4. Capacidad del Lupinus (Chocho) para mejorar la fertilidad del suelo.....	10
8.5. Sistema radicular del chocho ( <i>Lupinus mutabilis Sweet</i> ).....	10
8.6. Variedad de Lupinus.....	11
8.7. RHIZOBIUM.....	12
8.7.1. Generalidades del Rhizobium.....	13
8.7.2. Como se originan y forman los Rizobios.....	13

8.7.3.	Tipos de <i>Rhizobium</i> spp. La $\alpha$ -Proteobacteria son de siete géneros: .....	13
8.7.4.	Caracterización de cepas de <i>Rhizobium</i> como potenciales binóculos.....	14
8.7.5.	Simbiosis <i>Rhizobium</i> – Leguminosa.....	15
8.7.6.	La macrosimbionte – Las leguminosas.....	15
8.7.7.	Metabolismo de la <i>Rhizobia</i> . .....	15
8.7.8.	Procesos de nodulación.....	16
8.7.9.	Estructura de los factores de nodulación.....	16
8.8.	Cepas de <i>Rhizobium</i> . .....	17
8.9.	Concentración de las cepas de <i>Rhizobium</i> .....	18
8.10.	Factores que afectan la nodulación del <i>Rhizobium</i> spp.....	18
8.11.	La Bioaumentación.....	18
9.	METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	19
9.1.	Materiales.....	19
9.2.	Caracterización del sitio experimental.....	20
9.3.	Localización geográfica.....	21
10.	HIPÓTESIS. ....	21
11.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES. ....	22
11.1.	Datos a evaluar.....	23
11.2.	Porcentaje de germinación.....	23
11.3.	Altura de planta.....	23
11.4.	Numero de hojas verdaderas.....	23
11.5.	Diámetro de tallo.....	24
11.6.	Número de nódulos formados en la raíz.....	24
11.7.	Tamaño de nódulos.....	24
11.8.	Cepas multiplicadas de <i>Rhizobium</i> spp (C y T).....	24
12.	FACTORES EN ESTUDIO.....	24
13.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	25
13.1.	Tratamientos.....	25
13.2.	Unidad experimental.....	25
13.3.	Esquema del ADEVA.....	26
14.	METODOLOGÍA.....	26

14.1.	Área de estudio.....	26
14.2.	Muestreo del área de estudio (análisis de suelo inicial).....	27
14.3.	Preparación del suelo en las fundas vivero.....	27
14.4.	Preparación del Invernadero para la colocación de las fundas vivero.....	27
14.5.	Adquisición de semillas del chocho ( <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet) Var. INIAP-451...27	
14.6.	Inoculación de dosis en la semilla y siembre del <i>Lupinus</i> variedad Guaranguito (INIAP-451).....	27
14.7.	Labores pre culturales.....	28
14.8.	Toma de datos.....	28
14.9.	Análisis de suelo final.....	28
14.10.	Multiplicación de <i>Rhizobium</i> spp.....	28
15.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	30
15.1.	Análisis: Porcentaje de germinación del chocho ( <i>Lupinus mutabilis</i> ) variedad INIAP 451 Guaranguito.....	31
15.2.	Prueba Tukey al 5% del porcentaje de germinación.....	31
15.3.	Análisis: Altura de plantas (cm) del chocho ( <i>Lupinus mutabilis</i> ) variedad INIAP 451 Guaranguito.....	34
15.4.	Prueba de Tukey al 5% en la altura de plantas.....	34
15.5.	Análisis: Diámetro del tallo (mm) del chocho ( <i>Lupinus mutabilis</i> ) variedad INIAP 451 Guaranguito.....	37
15.6.	Prueba de Tukey al 5% en la dosis en el diámetro del tallo.....	37
15.7.	Prueba de Tukey al 5% en la dosis en el diámetro del tallo tratamientos vs testigos. 38	
15.8.	Análisis del número de hojas del chocho ( <i>Lupinus mutabilis</i> ) variedad INIAP 451 Guaranguito.....	41
15.9.	Prueba de Tukey al 5% en la dosis en el número de hojas.....	41
15.10.	Prueba de Tukey al 5% en la dosis en el número de hojas (tratamientos vs testigos). 42	
15.11.	Análisis del número de nódulos encontrados en la raíz del <i>Lupinus mutabilis</i> variedad INIAP 451 Guaranguito.....	44
15.12.	Prueba de Tukey al 5% en los nódulos de la raíz del <i>Lupinus</i> .....	44
15.13.	Prueba de Tukey al 5% en cepas en los nódulos de la raíz.....	46
15.14.	Prueba de Tukey al 5% en dosis en los nódulos de la raíz.....	47

15.15.	Prueba de Tukey al 5% en cepa* dosis en los nódulos de la raíz. ....	48
15.16.	Análisis de suelo inicial y final.....	50
16.	CONCLUSIONES .....	51
17.	RECOMENDACIONES.....	52
18.	REFERENCIAS.....	53
19.	ANEXOS.....	56
20.	FOTOGRAFÍAS. ....	77
21.	MANUAL de la multiplicación del Rhizobium spp.....	84

### ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1.	Objetivos y actividades a realizar. ....	7
TABLA N°2:	Taxonomía y morfología del cultivo de chocho. ....	9
TABLA N°3:	Fertilidad en grano y residuos de poscosecha en fijación del N.....	10
TABLA N°4:	Manejo agronómico y recomendaciones sobre la variedad Guaranguito .....	11
TABLA N°5:	Nodulación de la raíz en la fase desarrollo del Lupinus.....	12
TABLA N°6:	Clasificación científica del Rhizobium. ....	12
TABLA N°7:	Inducción del nitrógeno para la asimilación de las plantas .....	14
Tabla N°8:	Factores de crecimiento para el Rhizobium. ....	15
TABLA N°9:	Expresión de los genes nod A y nod B en diferentes cultivos. ....	17
TABLA N° 10:	Características del sitio de investigación. ....	20
TABLA N°11:	Operacionalización de variables (Variable independiente). ....	22
TABLA N°12:	Operacionalización de variables (Variable dependiente). ....	22
TABLA N°13:	Tratamientos del ensayo experimental. ....	25
TABLA N°14:	Parcela neta. ....	25
Tabla N°15:	Esquema de análisis de variancia (ADEVA) para el cultivo de chocho (Lupinus mutabilis Sweet).....	26

Tabla 16: Características morfológicas del Rhizobium (C y T) de las colonias y bacterias aisladas. .....	29
Tabla 17: Análisis de la varianza en el porcentaje (%), de germinación del cultivo del chocho (Lupinus mutabilis Sweet), variedad INIAP – 451 .....	30
Tabla 18: Prueba Tukey al 5% del porcentaje de geminación. ....	31
Tabla 19: Análisis de la varianza en la altura de planta en el cultivo del chocho (Lupinus mutabilis Sweet), variedad INIAP – 451 .....	33
Tabla 20: Prueba Tukey al 5% de la altura de las plantas. ....	34
Tabla 21: Análisis de la varianza en el diámetro de las plantas en el cultivo del chocho (Lupinus mutabilis Sweet), variedad INIAP – 451 .....	36
Tabla 22. Prueba de Tukey al 5% del diámetro del tallo.....	37
Tabla 23: Prueba Tukey al 5%, tratamientos vs testigos del diámetro de tallo. ....	39
Tabla 24: Análisis de la varianza en el número de hojas en el cultivo del chocho (Lupinus mutabilis Sweet), variedad INIAP – 451 .....	40
Tabla 25: Prueba Tukey al 5% para el número de hojas. ....	41
Tabla 26: Prueba Tukey al 5%, tratamientos vs testigos para el número de hojas .....	43
Tabla 27: Análisis de la varianza en los nódulos del cultivo del chocho (Lupinus mutabilis Sweet), variedad INIAP – 451.....	44
Tabla 28: Prueba Tukey al 5% para los nódulos formados por las dos dosis vs el testigo en la raíz del Lupinus. ....	45
Tabla 29: Prueba de Tukey al 5% para número de nódulos de Cotopaxi y Tungurahua. ....	46
Tabla 30: Prueba de Tukey al 5% en los nódulos de la raíz (T). ....	47
Tabla 31: Prueba de Tukey al 5% para cepa*dosis de los nódulos en la raíz. ....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01: Promedio del (%) porcentaje de germinación de chocho (Lupinus mutabilis) variedad INIAP – 451 .....	32
--	----

Figura 02: Promedio de altura de planta del chocho (Lupinus mutabilis) variedad INIAP – 451	35
Figura 03: Promedio del diámetro de tallo del chocho (Lupinus mutabilis) variedad INIAP – 451	38
Figura 04: Promedio del diámetro de tallo del chocho (Lupinus mutabilis) variedad INIAP – 451	39
Figura 05: Promedio para el número de hojas del chocho (Lupinus mutabilis) variedad INIAP – 451	42
Figura 06: Promedio para el número de hojas del chocho (Lupinus mutabilis) variedad INIAP – 451	43
Figura 07: Promedio para el número de nódulos en la raíz del chocho (Lupinus mutabilis Sweet) variedad INIAP – 451	45
Figura 08: Promedio para el número de nódulos para las dos cepas de Rhizobium	46
Figura 09: Promedio para el número de nódulos de acuerdo a las dosis aplicadas en el cultivo	48
Figura 10: Promedio para el número de nódulos de acuerdo a las dosis aplicadas (CEPAS*DOSIS)	49
Figura 11: Análisis de suelo inicial y final del cultivo de chocho (Lupinus mutabilis Sweet), INIAP-451 guaranguito	50

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Aval de traducción	56
Anexo 2. Diseño de campo	57
Anexo 3. Datos de los indicadores evaluados	58
Anexo 4. Hoja de vida del estudiante	69
Anexo 5. Hoja de vida del tutor	70
Anexo 6. Análisis de suelo Inicial	71
Anexo 7. Análisis de suelo final de cada dosis	72

Anexo 8. Testigo (sin dosis de Rhizobium) .....	76
---	----

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Preparación del área de estudio.....	77
Fotografía 2. Colocación del sistema de riego.....	78
Fotografía 3. Desinfección y colocación del abono (turba) en las fundas. ....	78
Fotografía 4. Inoculación de la semilla de chocho ( <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet) dosis (1cc y 2cc) Rhizobium spp (Tungurahua y Cotopaxi), var. INIAP-451 .....	79
Fotografía 5. Siembra del <i>Lupinus</i> inoculado con las dos dosis. ....	80
Fotografía 6. Control de temperatura y HR en el cultivo de chocho ( <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet) var. INIAP-451 .....	80
Fotografía 7. Regadío cada 7 a 8 días al cultivo de chocho.....	81
Fotografía 8. Desarrollo del cultivo de chocho ( <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet) var. INIAP-451.....	81
Fotografía 9. Extracción de raíces para el conteo de nódulos formados en el cultivo de chocho..	82

## **1. INFORMACIÓN GENERAL.**

### **Título del Proyecto:**

“Evaluación de dos cepas (Cotopaxi y Tungurahua) de *Rhizobium* spp a dos dosis en (*Lupinus mutabilis Sweet*) var. iniap-451 (Guaranguito), CEASA- Cotopaxi. 2022”.

### **Fecha de inicio:**

Abril – 2021

### **Fecha de finalización:**

Marzo - 2022

### **Lugar de ejecución.**

**Institución:** Universidad Técnica de Cotopaxi.

**Campus** Salache.

**Cantón:** Latacunga

**Provincia:** Cotopaxi

### **Institución, unidad académica y carrera que auspicia**

Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Ingeniería Agronómica.

### **Carrera que auspicia:**

Ingeniería Agronómica.

### **Proyecto de investigación vinculado:**

Microbiología, Agricultura sustentable, biotecnología vegetal.

### **Equipo de investigadores:**

**Tutor de titulación:** Ing. Mg. Parra Gallardo Giovana Paulina. CC: 1802267037

**Lector 1:** Ing. Mg. Francisco Hernán Chancusig CC: 0501883920

**Lector 2:** Ing. Mg. Wilman Paolo Chasi Vizuete. CC: 0502409725

**Lector 3:** Ing. Ph.D. Carlos Javier Torres Miño CC: 0502329238

**Autor del proyecto:** Alex Roberto Chango Taco. CC: 0503565111

**Correo electrónico:** alex.chango5111@utc.edu.ec

**Área de Conocimiento.**

Agricultura – silvicultura y pesca – biodiversidad – Postcosecha

**Línea de investigación:**

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local

**Sub líneas de investigación de la Carrera:**

Caracterización de la biodiversidad.

**Línea de Vinculación.**

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

## 2. INTRODUCCIÓN.

En la presente investigación se basa en la evaluación de dos cepas de *Rhizobium* provenientes de Cotopaxi y Tungurahua, la cual será inoculada en la semilla del cultivo de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) bajo condiciones controladas. Los aspectos tomados en cuenta para esta investigación fueron la ecología, semilla de *Lupinus* (var. INIAP-451), adquisición y multiplicación del *Rhizobium*, elaboración de un manual sobre los procesos multiplicación del *Rhizobium* en el laboratorio de IGRA de la Universidad Técnica de Cotopaxi e inoculación de la bacteria mediante sumersión en la semilla de chocho a dos dosis (1cc y 2cc) para las dos cepas, para después realizar la toma de datos expuestos en la sección factores en estudio, la información recolectada se ingresó en Excel elaborado como un libro de campo para el registro.

Con la cooperación de la ingeniera encargada de los laboratorios de Ingeniería Agronómica se pudo establecer los protocolos sobre la multiplicación del *Rhizobium* spp, además se establecerá información para realizar un manual práctico que ayude al entendimiento sobre esta bacteria en específico de los *Rhizobium* Cotopaxi y Tungurahua.

Si va a realizar investigaciones e inoculación de microorganismos como los rizobios se debe de tener en cuenta que no todos forman nódulos en las raíces (FBN), que dependen mucho de la planta hospedera (leguminosas) y son genéticamente estables en las fases fenológicas del cultivo de la planta inoculada y que tenga una relación beneficio costo favorable para los productores del *Lupinus*.

La utilización de microorganismos benéficos como los rizobios, involucra una serie de procesos para su reproducción y multiplicación masiva. Como la preparación de materiales y medios de cultivo, así como técnicas de multiplicación, donde cuyo objetivo principal es la formación de nódulos, que, una vez aplicado en campo, actúe directamente con las raíces haciéndolo más efectivo y posibilite la FBN en leguminosas.

En el manual elaborado tiene como objetivo describir en forma detallada y simple los procesos y pasos para realizar la multiplicación del *Rhizobium* para ser utilizado como inoculantes.

### 3. PROBLEMÁTICA.

Con información recopilada en diferentes fuentes sobre la bacteria *Rhizobium spp* y cuando fueron aplicadas en campo, se puede analizar desde un punto de vista sistemático y teniendo en cuenta cuan confiable es la inoculación de la bacteria Rhizobium en el *Lupinus mutabilis Sweet*. ¿Investigaciones provenientes de artículos confiables? ¿Se trata de investigaciones de inoculación del Rhizobium en leguminosas? ¿En qué países se realizó estos estudios sobre la inoculación del Rhizobium? Esto permite hacer una especie de análisis de la información encontrada de lo que dicen las evidencias disponibles. La inoculación del Rhizobium en campo tiene mayor poder de evidencia.

Debido a que la agricultura convencional es el sistema más común para la producción del Chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*), donde la utilización de productos sintéticos causan efectos secundarios al medio ambiente, según El Telégrafo, (2016) menciona que, en la mayoría de los casos, la siembra del chocho se realiza sin preparar el suelo y aplicando químicos para una producción alta y no hace falta la selección de semilla o adquisición de semilla certificada ya que se puede obtener un cultivo de chocho para la producción.

El uso discriminado de los fertilizantes nitrogenados en la agricultura ocasiona contaminación ya que cuando aplican estos fertilizantes la planta no la aprovecha en su totalidad. Donde la mejor opción es FBN (fijación biológica del nitrógeno), siendo una opción natural de síntesis y asimilación del (N) con la bacteria Rhizobium, siendo una forma de fertilización alternativa para mejorar los suelos y aumentar la capacidad de la formación de nódulos en la raíz del chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) y de las demás leguminosas.

Se ha determinado que el uso de la bacteria *Rhizobium spp* fija este macronutriente a mayores cantidades en el suelo provocando un mayor desarrollo de las plantas inoculadas.

En esta investigación se realizó, la inoculación dos cepas de Rhizobium (C y T) para verificar su grado de colonización y adaptabilidad.

#### 4. JUSTIFICACIÓN.

La creación de nuevas tecnologías con el uso de microorganismos benéficos en leguminosas como es la bacteria *Rhizobium spp*, donde se establecerá una nueva alternativa que sea realizada mediante una síntesis en la fijación del nitrógeno con la inoculación de diluciones del *Rhizobium* en la semilla del *Lupinus*, esto ayudando así al agricultor que se dedica a este cultivo a cambiar el método de manejo agronómico y así pudiendo aplicar el inoculo de *Rhizobium* a este cultivo para no depender de controles químicos y disminuir la contaminación del suelo y agua y mejorar su economía, mejorando su producción en el chocho.

Sin olvidar que el objetivo principal de esta investigación es el de mejorar la nodulación en las raíces del chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) con las dos cepas de *Rhizobium* (C y T) inoculadas en la semilla mediante sumersión a dos dosis (1cc y 2cc), así creando nuevas enseñanzas e ideas nuevas.

El presente proyecto de investigación, con el tema: “Evaluación de dos cepas (Cotopaxi y Tungurahua) de *Rhizobium spp* a dos dosis en (*Lupinus mutabilis Sweet*) var. iniap-451 (Guaranguito), CEASA- Cotopaxi. 2022”. Tiene como finalidad evaluar si existe la presencia de nódulos mediante la inoculación de las dos cepas diferentes de la bacteria *Rhizobium* en la semilla del chocho, buscando una alternativa de mejorar la formación de nódulos en las raíces de esta planta, por lo que se consideró en la presente investigación dar una solución a este cultivo donde exista un bajo nivel de nitrógeno en el suelo cuando las semillas sean sembradas y mejorar esta condición mediante esta bacteria y si las dosis aplicadas generan cambios en el proceso de crecimiento. Donde se espera aportar conocimientos a investigadores, estudiantes y productores del *Lupinus*.

#### 5. BENEFICIARIOS

**Beneficiarios directos:** Los beneficiarios de este proyecto de investigación son los productores del cultivo del chocho de las diferentes provincias del Ecuador, donde se siembran este cultivo.

**Beneficiarios indirectos:** Profesionales de la carrera de agronomía de la Universidad Técnica de Cotopaxi y los estudiantes del nivel académico de ingeniería agronómica.

## 6. OBJETIVOS:

### 6.1. Objetivo General

- Evaluar las dos cepas de *Rhizobium spp* de Cotopaxi y Tungurahua a dos dosis en (*Lupinus mutabilis Sweet*) en la variedad INIAP-451, Guaranguito.

### 6.2. Objetivos Específicos

- Comprobar la adaptabilidad de las dos cepas de *Rhizobium* (C y T) en el *Lupinus* var. INIAP-451.
- Determinar la mejor dosis de los inóculos aplicados en el cultivo de *Lupinus*
- Observar y numerar la presencia de nódulos en la raíz formados por cada cepa de *Rhizobium spp*.
- Establecer un manual sobre los métodos adecuados para la multiplicación del *Rhizobium spp*.

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

**TABLA N°1.** Objetivos y actividades a realizar.

<b>ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS:</b>			
<b>OBJETIVO 1</b>	<b>ACTIVIDADES</b>	<b>RESULTADO DE LA ACTIVIDAD</b>	<b>MEDIOS DE VERIFICACIÓN</b>
Comprobar la adaptabilidad de las dos cepas de <i>Rhizobium</i> (C y T) en el <i>Lupinus</i> var. INIAP-451.	-Observar el proceso de crecimiento del cultivo con la dosis aplicada.	-Siembra  -Determinar efectividad si las dosis fueron las correctas.	-Libro de campo.  -Fotografías
<b>OBJETIVO 2</b>	<b>ACTIVIDADES</b>	<b>RESULTADO DE LA ACTIVIDAD</b>	<b>MEDIOS DE VERIFICACIÓN</b>
Determinar la mejor dosis de los inóculos aplicados en el cultivo de <i>Lupinus</i>	-Dato de crecimiento antes y después del inóculo en el cultivo.	-% de germinación  -Altura de planta  -Diámetro de tallo  -Número de hojas verdaderas	-Libro de Campo.  -Fotografías.
<b>OBJETIVO 3</b>	<b>ACTIVIDADES</b>	<b>RESULTADO DE LA ACTIVIDAD</b>	<b>MEDIOS DE VERIFICACIÓN</b>
Observar y numerar la presencia de nódulos en la raíz formados por cada cepa de <i>Rhizobium spp.</i>	-Extracción de la raíz del chocho.  -Toma de muestras de nódulos.  -Observar los nódulos.	-Total de nódulos contados para cada cepa de <i>Rhizobium</i> .	-Fotografías.  -Libro de campo.

<b>OBJETIVO 4</b>	<b>ACTIVIDADES</b>	<b>RESULTADO DE LA ACTIVIDAD</b>	<b>MEDIOS DE VERIFICACIÓN</b>
Establecer un manual sobre los métodos adecuados para la multiplicación del <i>Rhizobium spp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cepas de Rhizobium.</li> <li>- Revisión bibliográfica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Medios de cultivo.</li> <li>-Cepas multiplicadas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Manual.</li> <li>-Fotografías.</li> </ul>

Elaborado por: (Chango Alex, 2021)

## **8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA**

### **8.1. Generalidades del cultivo de Chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*)**

#### **Origen.**

Cabe mencionar que el chocho es una leguminosa, en las épocas antiguas era cultivada por los pobladores de la región andina entre las épocas pre-incaicas, según los estudios realizados se menciona que este cultivo se comenzó a sembrar aproximadamente entre los años 2200 y 2500 a.C. convirtiéndola en una planta nativa procedente de los Andes. (*Villacrés et al., 2006*)

El ciclo vegetativo de esta leguminosa se cumple entre los seis y ocho meses dependiendo a la variedad que se ha sembrado, este cultivo tiene la facilidad de adaptarse a climas entre 8°C y 14°C, pero un dato a tomar en cuenta y muy importante es el de evitar sembrar en zonas proclives a las heladas ya que esto impacta negativamente al cultivo de *Lupinus* sobre todo en el desarrollo inicial de la planta. Otro riesgo a tomar como peligroso para el cultivo es la granizada ya que puede provocar daños mecánicos a la planta. (*La Hora, 2016*)

## 8.2. Clasificación taxonómica.

**TABLA N°2:** Taxonomía y morfología del cultivo de chocho.

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Fabales
Familia:	Leguminosae Fabaceae
Subfamilia:	Faboideae
Género:	Lupinus
Subgénero:	Platycarpos (Wats.) Kurl.
Especie:	L. mutabilis
Nombre científico:	Lupinus mutabilis Sweet
Nombre común:	Tarwi, chocho

**Fuente:** (Almeida, 2015)

## 8.3. Ventajas del cultivo de chocho.

Este cultivo puede ser sembrada en altitudes entre 200 y 3800 msnm, en climas templados y fríos siendo una gran ventaja para cultivar en cualquier región. Por la facilidad que tiene este cereal para adaptarse en cualquier suelo ayudando a fijar nitrógeno y no requiere de mucha humedad, la precipitación exigida para el cultivo es entre 400 a 800 mm anuales repartiéndose durante la formación de flores y frutos. Una vez cosechado este producto y realizado el lavado y cocido queda listo para el consumo humano. (*Villacrés et al., 2006*)

#### 8.4. Capacidad del Lupinus (Chocho) para mejorar la fertilidad del suelo.

La planta de Lupinus tiene la gran la capacidad de movilizar macronutrientes como el fosforo, potasio, azufre y otros elementos que se encuentran fijados en el suelo, esto se debe a que el Lupinus cuenta con un sistema de exudados de ácido cítrico en su sistema radicular, el Lupinus también cuenta con la capacidad de movilizar del suelo elementos de difícil solubilidad (fosfatos) para otras plantas, también cabe mencionar que la planta de Lupinus tiene una efectiva fijación del nitrógeno en el suelo ayudando a recuperar suelos con escasos de este elemento, mencionando que para alcanzar positivamente una estructura y fertilidad del suelo debemos alcanzar valores de 50 a 200 kg/ha a través de los desechos de Lupinus como abono verde. (Abril, 2015)

Revisiones bibliográficas nos permite establecer que el cultivo de Lupinus aumenta la fertilidad del suelo: la cual se demostrará en el siguiente cuadro:

**TABLA N°3:** Fertilidad en grano y residuos de poscosecha en fijación del N.

TIPO DE MATERIA	RENDIMIENTO	FERTILIDAD del suelo (acumulación de N)
Granos	2.5 a 3.5 t/ha	100 a 250 kg/ha
Residuos poscosecha (raíces y rastrojos)	3 a 8 toneladas de materia orgánica.	30 kg de óxido fosfórico 50 kg de óxido de potasio

Fuente: (Abril, 2015)

#### 8.5. Sistema radicular del chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*).

Se sabe que, como leguminosa, el chocho o tarwi posee una raíz pivotante vigorosa y profunda que en algunas investigaciones realizadas sobre esta raíz ha llegado hasta los 3m de profundidad dependiendo la variedad. (ECOGRAINS & Cultivos Andinos – FAO, 2014)

## 8.6. Variedad de Lupinus.

### INIAP-450 Guaranguito.

**TABLA N°4:** Manejo agronómico y recomendaciones sobre la variedad Guaranguito.

<b>Tamaño</b>	129,9 cm
<b>Cosecha</b>	171 días
<b>Rango de rendimiento en seco</b>	834 – 1900 kg/ha
<b>Promedio de rendimiento en seco</b>	1398 kg/ha
<b>Diámetro de grano</b>	Medio
<b>Color</b>	Blanco
<b>Forma</b>	Oval aplanado
<b>Zonas recomendadas</b>	Bolívar
<b>Altitud</b>	2200 – 3600 m
<b>Época de siembra</b>	Diciembre-abril
<b>Cantidad de semilla/ha</b>	50 a 90 kg dependiendo la siembra
<b>Distancia de siembra</b>	60 cm entre surcos y 40 a 70 cm entre sitios
<b>Cantidad de siembra/semilla</b>	3 semillas/sitio
<b>Fertilización</b>	Dos sacos de 11-52-00 y un saco de Sulpomag/ha
<b>Principales plagas</b>	-
<b>Enfermedades comunes</b>	Tolerante a enfermedades en la zona sugerida
<b>Recomendaciones</b>	Alternativa para mejorar suelos pobres en N, P y S

**Fuente:** (Peralta et al., 2010)

**TABLA N°5:** Nodulación de la raíz en la fase desarrollo del Lupinus.

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>DETALLES</b>
La nodulación en la raíz se desarrolla a partir del quinto día después de la germinación	Se desarrolla un proceso de simbiosis junto con las bacterias nitrificantes que se encuentran en el suelo.
	Forman nódulos de varios tamaños entre 1 a 3 cm. Demostrando que tenemos un suelo con presencia de bacterias y se las conoce como <i>Rhizobium lupini</i> .
	El eje central de la raíz actúa con las plantas más vigorosas y productivas. Pero hay que tomar en cuenta que, si deseamos alcanzar nódulos de hasta 3 cm, debemos seleccionar las condiciones climáticas y de suelo semejantes que este cultivo requiere. Si logramos alcanzar estos factores, los nódulos no solo se van a formar en la raíz primaria sino también en la ramificación radicular e incluso en raíces secundarias.

Fuente: (Castillo, 1998)

### 8.7. RHIZOBIUM.

**TABLA N°6:** Clasificación científica del Rhizobium.

<b>Reino:</b>	Bacteria
<b>Filo:</b>	Proteobacteria
<b>Clase:</b>	Proteobacteria alfa
<b>Orden:</b>	Rhizobiales
<b>Familia:</b>	Rhizobiaceae
<b>Genero:</b>	Rhizobium
<b>Especie:</b>	Rhizobium leguminosarum

Fuente: (ECURED, 2020)

### 8.7.1. Generalidades del Rhizobium.

**La fijación biológica del nitrógeno (diazotrofia) es un proceso muy antiguo.**

Se menciona que se originó en el Eon arqueano con las condiciones anoxigénicas de nuestra atmósfera primitiva hace muchos años atrás, y que es exclusivo de procariontes. Sólo ocurre en los procariontes Euryarchaeota y en 6 más de los 50 phyla de Bacterias existentes en nuestro planeta. Algunas de estas bacterias de alto linaje coevolucionaron conjuntamente con las angiospermas estableciendo enlaces moleculares con una alta relación de simbiosis mutualista hasta nuestros tiempos. Que es en el caso de los rizobios, el nitrógeno es fijado correctamente dentro de varias estructuras especializadas que dan paso a la formación de los nódulos, y estas se desarrollan en la raíz, en algunos casos y muy raramente en el tallo de las plantas leguminosas. (*Lloret & Martínez, 2005*)

### 8.7.2. Como se originan y forman los Rizobios.

**Primero:** Su organogénesis inicia con los factores de nodulación codificados dentro del genoma de la bacteria, en plásmidos grandes o islas de simbiosis.

**Segundo:** Los genes de la nodulación son más recientes que los de la fijación de nitrógeno ya que su origen se asocia con la aparición de su hospedero (leguminosa).

**Tercero:** La filogenia del gen *rrs* agrupa a los rizobios dentro de la división Proteobacteria.

### 8.7.3. Tipos de Rhizobium spp. La $\alpha$ -Proteobacteria son de siete géneros:

- Bradyrhizobium
- Mesorhizobium
- Rhizobium
- Sinorhizobium
- Azorhizobium
- Methylobacterium
- Devosia

**Con otro tipo de filogenia que se agrupan es en la familia de  $\beta$ -Proteobacteria con dos géneros recientemente descritos.**

- Burkholderia.
- Wautersia.

En contexto la topología que resulta con este gen es que coincide a nivel de género con la de otros genes cromosomales, pero, sin embargo, es incongruente con la de los genes simbióticos (nif y nod) esto quiere decir que, por estar codificados con elementos móviles, su transferencia horizontal y con el pasar del tiempo esto les ha permitido evolucionar en función de la adecuación a la planta hospedera para realizar la fijación biológica del nitrógeno. (*Lloret & Martínez, 2005*)

Varios artículos e investigaciones realizadas sobre esta bacteria mencionan que el Rhizobium es considerada un proceso biológico de alta eficiencia para la fijación del nitrógeno atmosférico (FBN) induciendo en las raíces de las leguminosas formando estructuras especializadas conocidas como nódulos, abasteciendo hasta un 90% sobre las necesidades que requiere la planta sobre el nitrógeno. (*López et al., 2017*)

**TABLA N°7:** Inducción del nitrógeno para la asimilación de las plantas.

Atmosférico	Reducción a iones amonio	Asimilación
$N_2$	$NH_4^+$	Fácil y estable

Fuente: (*López et al., 2017*)

#### **8.7.4. Caracterización de cepas de Rhizobium como potenciales binóculos.**

Se dice que en la actualidad la taxonomía de las bacterias Rhizobium está basada en un enfoque polifásico donde se determina la caracterización de la morfología, bioquímica, fisiología y genética entre otras características, se estima que estas bacterias las que aún no son conocidas en el mundo debido a que las leguminosas ya que estas plantas son muy diversas y se encuentran distribuidas por todo el ecosistema del planeta, debido a esto no se pueden adelantar estudios de tipo genético con sus propiedades fenotípicas sobre las diferentes bacteria fijadoras de N. (*Cuadrado et al., 2009*)

### 8.7.5. Simbiosis Rhizobium – Leguminosa.

Debido a la importancia que presenta en agronomía la asociación mutualista del Rhizobium y el cultivo de estas plantas a escala mundial, ambos participes (leguminosas y Rhizobium) son capaces de vivir independientemente, sin embargo la gran ventaja que presenta la formación de nódulos, ya que los dos se benefician con estos fijadores, demostrando que los nódulos formados en la raíz son órganos especializados como el resultado de un dialogo molecular que se da por parte de los Rhizobia y de las plantas. (Lloret & Martínez, 2005)

### 8.7.6. La macrosimbionte – Las leguminosas.

Las leguminosas son plantas que pertenecen a un grupo donde están incluidas en la División Magnoliophyta, Clase Magnoliopsidae y de orden Fabales, su nombre proviene del latín legum que significa *semillas con vaina*, Actualmente se acepta que todas las leguminosas pertenecen a una familia denominada Fabaceae con tres subfamilias: Mimosoideae, Caesalpinoideae y Papilionoideae. (Cronquist, 1988)

Se ha demostrado en varias investigaciones encontradas que la mayoría de las especies de las subfamilias Faboideae y Mimosoideae tienen la capacidad de realizar la nodulación siendo capaces de establecer simbiosis con la bacteria Rhizobia. (Lewis et al., 2005)

### 8.7.7. Metabolismo de la Rhizobia.

**Tabla N°8:** Factores de crecimiento para el Rhizobium.

Tipos	Aerobios
Temperatura de crecimiento	25 y 30°C (algunas especies necesitan 40°C)
pH óptimo para crecimiento	6.0 y 7.0 pero pueden predominar de 4.0 a 10.0
Generación de las cepas de Rhizobium	1.2 – 5.0 horas

**Fuente:** (Kuykendall, 2005)

### 8.7.8. Procesos de nodulación.

Se conocen bien las etapas de la infección y desarrollo de nódulos radicales. Estas incluyen:

- Reconocimiento de la combinación adecuada de organismos, tanto por parte de la planta como de la bacteria.
- Adherencia de la bacteria a los pelos radicales.
- Invasión del pelo radical y formación de un canal de infección
- Desplazamiento de las bacterias hacia la raíz principal a través del canal de infección.
- Diferenciación de las bacterias en un nuevo tipo al que se le llama bacteroides.
- Dentro de las células de la planta se desarrolla el estado de fijación de nitrógeno.
- División de las células bacterianas y vegetales.
- Formación del nódulo radical maduro.

Se ha dado en algunos casos las formas de los bacteroides no tienen capacidad de división, pero esto no impide a la formación de estos nódulos, porque los nódulos contienen siempre algunos rizobios en estado de latencia. Siendo esto una gran ventaja para realizar la actividad de proliferar en el suelo utilizando como nutrientes del nódulo destruido, donde las bacterias tienen la oportunidad de iniciar la infección en otras raíces o mantenerse en estado libre en el suelo hasta encontrar una planta (leguminosa) hospedera. (*Wang et al., 2002*)

### 8.7.9. Estructura de los factores de nodulación.

La estructura básica química de los factores de nodulación es muy compleja, pero que contiene gran semejanza de los que son producidos para las distintas o diferentes especies de la bacteria *Rhizobium*, estas bacterias son las encargadas de formar cadenas comunes y que estas compuestas de tres a cinco unidades la cual son las siguientes: (*Nápoles et al., 2008*)

N-acetil glucosamina (quitina). Unidas por el enlace  $\beta$ -1.4 que esta derivada de genes comunes con el extremo no reductor proveniente de una cadena alifática, variada en longitud e insaturación y también está compuesta por distintas sustituciones las cuales son acetil, carbamoil, metil, sulfato y varios grupos de azucres en el extremo reductor. (*Nápoles et al., 2007*)

**TABLA N°9:** Expresión de los genes nod A y nod B en diferentes cultivos.

<b>nod A, nod B</b>	Nod purificados afecta el desarrollo del tabaco induciendo la división celular en los protoplastos.
	Activan la respuesta en auxinas
	En cultivos celulares como el tomate estimula la rápida alcalinización al igual que en las zanahorias.
	Tiene la posibilidad de formar embriones somáticos.

**Fuente:** (Crocí, 2020)

En algunos artículos de investigación encontrados demuestran que algunas plantas que no pertenecen a la familia de las leguminosas son capaces de reconocer con una respuesta efectiva ante los factores Nod. (*Paredes, 2013*)

### **8.8. Cepas de Rhizobium.**

Para la obtención de un buen rendimiento de cualquier cultivo referido a leguminosas es necesario utilizar fertilizantes nitrogenados, pero cuando el agricultor adquiere estos productos eleva sus costos de producción afectando su economía y consumo, Entonces, una alternativa recomendable para mejorar el factor de fertilizantes es la utilización de inoculantes bacterianos que aporten mejorar en el suelo con las bacterias rizobios viables que sean seleccionados por su infectividad y efectividad simbiótica. (*Hamdi, 1985*)

Para la fabricación de cepas de Rhizobium (inoculantes), deben estar respaldados por un estricto control que asegure a sus compradores calidad del producto (cepa de bacterias), esto con el fin de llevar un control del inoculante ya que esto se realiza en las diferentes fases del proceso aplicados en un cultivo de la familia de las leguminosas, donde presente las características cualitativas y cuantitativas de la población rizobiana. Los fabricantes de inoculantes deben cumplir con estos requisitos: Empleo de cepas recomendadas por organismos de investigación, asegurar la garantía mínima de que la cepa que contiene 10 millones de rizobios por gramo. (*Matos & Zúñiga, 2003*)

Bioseorganics (2016), menciona que, una cepa de Rhizobium es un producto líquido leguminosarum eficiente para la fijación de nitrógeno para la asociación de nódulos en las raíces

de las leguminosas. El producto puede presentarse en de diferentes concentraciones según requiera el cliente.

### **8.9. Concentración de las cepas de Rhizobium.**

Se trata de varios inoculantes que son preparados a diferentes disoluciones, que debe estar estabilizado, altamente concentrado y en forma líquida que contiene a las bacterias del género *Rhizobium* spp. Con una concentración equilibrada de  $3.2 \times 10^4$  y  $5.8 \times 10^9$  UFC/ml ya que esto ayuda a promover una rápida nodulación de las raíces de las plantas leguminosas. Una vez formadas estos nódulos la planta deja de necesitar aportes de nitrógeno (fertilizantes químicos), ya que estas actúan como fabricantes naturales y captadoras de nitrógeno atmosférico que transforma en nitrógeno biodisponible ( $NH_4^+$ ). (*FERTIVEG AGRI, 2021*)

### **8.10. Factores que afectan la nodulación del Rhizobium spp.**

Los factores y condiciones que afectan a la fijación y nodulación del nitrógeno son varios, como las temperaturas extremas que se producen en el día y la noche, la salinidad, acidez o sequía, son las principales que afectan negativamente a la simbiosis del *Rhizobium*-leguminosa, donde como resultado se obtiene una baja nodulación y bajos niveles de la fijación del nitrógeno (FBN). (*Nápoles et al., 2007*)

### **8.11. La Bioaumentación.**

La bioaumentación su principio se refiere a la utilización de microorganismos que estén concentrados y altamente especializados para incrementar y mejorar la capacidad de degradación de la población microbiana del suelo de la forma más natural posible. Donde consiste en inocular microorganismos vivos que han sido aislados con métodos de laboratorio y seleccionados por su alta capacidad de degradar contaminantes, dando como resultado la biodegradación a su biotransformación. Le brinda al agricultor un control adicional sobre el sistema de tratamientos en sus cultivos, permitiendo variar la diversidad y calidad de la población microbiana de la planta en las que se haya realizado esta práctica. Donde las cepas selectivas pueden ser adaptadas en cualquier suelo atacando a contaminantes particulares estabilizando los procesos microbianos y reduciendo los costos operativos de la planta brindando un mejor desarrollo de esta. (*LÓPEZ et al., 2016*)

## 9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL.

### 9.1. Materiales.

#### Maquinarias y equipo.

- Azadón
- Carretilla
- Flexómetro
- Cámara fotográfica
- Balanza
- Bomba de agua
- Sistema de micro aspersión
- Hidro termómetro

#### Material experimental.

- Semilla de Lupinus (Guaranguito)
- Disoluciones de Rhizobium (Cotopaxi, Tungurahua)

#### Materiales de campo.

- Letreros de identificación
- Martillo
- Funda vivero (30 cm x 25 cm)
- Guantes
- Mascarilla
- Turba (abono)
- Sarán
- Tierra cernida.

## 9.2. Caracterización del sitio experimental.

**TABLA N° 10:** Características del sitio de investigación.

<b>Provincia</b>	Cotopaxi	<b>Cultivo nuevo</b>	Chocho (INIAP-451)
<b>Cantón</b>	Latacunga	<b>Sistema de Siembra</b>	Manual
<b>Parroquia</b>	Eloy Alfaro	<b>Superficie del ensayo</b>	5.10 x 3.66m
<b>Lugar</b>	CEASA Salache (UTC)	<b>N° de tratamientos</b>	15
<b>Localidad</b>	Salache	<b>N° de fundas x T</b>	6
<b>Longitud</b>	00°59'57S	<b>Área de cada tratamiento</b>	0.80x 1.10m
<b>Latitud</b>	78°37'14W	<b>Distancia entre tratamientos</b>	0.50cm
<b>Altitud</b>	2.725 msnm	<b>Número de plantas</b>	90
		<b>Distancia de caminos</b>	0.50cm
		<b>Textura de suelo</b>	Franco arenoso
		<b>Fecha de siembra</b>	12 / 10 / 21

**Elaborado por:** Chango, A. (2022)

### 9.3. Localización geográfica.

**Imagen 01:** Localización de la UTC, facultad CAREN.



Fuente: (Google Maps, 2021)

## 10. HIPÓTESIS.

### ***H0= Hipótesis Nula.***

Las cepas del inoculante no influyen en el desarrollo fenológico inicial del cultivo de Chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*).

### ***H1= Hipótesis Alternativa.***

Las cepas del inoculante influyen en el desarrollo fenológico inicial del cultivo de Chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*).

### ***H0= Hipótesis Nula.***

La dosis del inoculo de *Rhizobium* spp aplicados en el cultivo de Chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) no forman nódulos en la raíz de la planta.

### ***H2= Hipótesis Alternativa.***

La dosis del inoculo de *Rhizobium* spp aplicados en el cultivo de Chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) si forman nódulos en la raíz de la planta.

## 11. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

**TABLA N°11:** Operacionalización de variables (Variable independiente).

INDICADOR	ÍNDICE UNIDAD DE MEDIDA	INTRUMENTO TECNOLÓGICO	INTRUMENTO METODOLÓGICO	TECNICA
Material genético Semillas (Andino y Guaranguito)	variedad	No aplica	Libro de campo	Medición
Dosis de Rhizobium	ml	Gotero o cuenta gotas	Libro de campo	Conteo

Elaborado por: Chango, A. (2022)

**TABLA N°12:** Operacionalización de variables (Variable dependiente).

INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA	INTRUMENTO TECNOLÓGICO	INTRUMENTO METODOLÓGICO	TÉCNICA
<b>Desarrollo del Chocho</b>				
Porcentaje de germinación	%	Calculadora	Libro de campo	Conteo
Altura de planta	cm	Flexómetro o regla	Libro de campo	Medición
Número de Hojas	#	Libro de campo	Libro de campo	Conteo
Diámetro de tallo	cm	Calibrador	Libro de campo	Medición

<b>Nodulación</b>				
Nódulos	#	Microscopio estereoscópico o lupa	Libro de campo	Conteo
<b>Multiplicación del Rhizobium spp</b>				
Cepas multiplicadas	#	Incubadora	Cajas Petri Medios de cultivo	Conteo
Conteo de UFC	Formula	Contador de UFC	Libro de registro	Conteo

**Elaborado por:** Chango, A. (2022)

### **11.1. Datos a evaluar.**

De acuerdo con el cuadro de operacionalización de variables de varianza se realizó la toma de datos, tomando en cuenta el porcentaje de plantas germinadas con las dos dosis aplicadas del Rhizobium, altura de planta, número de hojas verdaderas, diámetro de tallo y número de nódulos formados en las raíces.

### **11.2. Porcentaje de germinación.**

Se realizó este procedimiento 08 días después de haber realizado la siembra, el conteo se realizó por cada tratamiento aplicando una regla de tres para determinar el porcentaje de plantas germinadas.

### **11.3. Altura de planta.**

Este dato se tomó a los 14 días después de obtener al 100% de germinación del cultivo, esta toma de datos se realizó con la ayuda de un flexómetro y el libro de campo.

### **11.4. Numero de hojas verdaderas.**

Para este procedimiento se tomó en cuenta cuando la planta ya propago hojas palamatisecto forma original de la hoja del Lupinus, los datos tomados se apuntaron en el libro de campo.

### **11.5. Diámetro de tallo.**

Para la toma de datos del diámetro de tallo se tomó en cuenta a los 14 días después de haber obtenido el porcentaje de germinación al 100% del cultivo, con la ayuda del calibrador los datos obtenidos fueron anotados en el libro de campo.

### **11.6. Número de nódulos formados en la raíz.**

Para la toma de datos de la cantidad formada de nódulos en la raíz en el *Lupinus*, se procedió a extraer la planta con la raíz completa a los 4 meses de desarrollo, con la ayuda de una lupa se contó los nódulos formados en cada tratamiento y se anotó en el libro de campo.

### **11.7. Tamaño de nódulos.**

Para obtener el tamaño de nódulos se procedió a extraer los nódulos de las mejores raíces del *Lupinus*, con la ayuda de un calibrador se midió su tamaño o longitud y se anotó el libro de campo.

### **11.8. Cepas multiplicadas de *Rhizobium* spp (C y T)**

Para la multiplicación de las dos cepas de *Rhizobium*, se procedió a realizar en los laboratorios de IAGR de la UTC, con la guía de la docente encargada de las instalaciones se realizó un manual sobre este tema, donde se encuentra detallado cada paso a realizar.

## **12. FACTORES EN ESTUDIO.**

**Factor A:** cepas de *Rhizobium* spp.

- a) C1: Cotopaxi.
- b) C2: Tungurahua

**Factor B.** Dosis

- a. D1: (1cc)
- b. D2: (2cc)

**Testigo.**

- a) T1: Sin dosis de *Rhizobium*

### 13. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Para este proyecto de investigación se aplicó el diseño experimental DBCA, bloques completamente al azar, con dos factores de estudio y un testigo con un arreglo factorial de 2x2+1 con tres repeticiones.

#### 13.1. Tratamientos.

**TABLA N°13:** Tratamientos del ensayo experimental.

Tratamientos	Codificación	Descripción
1	C1D1	Rhizobium Cotopaxi 1cc
2	C1D2	Rhizobium Cotopaxi 2cc
3	C2D1	Rhizobium Tungurahua 1cc
4	C2D2	Rhizobium Tungurahua 2cc
5	Testigo	Sin Rhizobium

Elaborado por: Chango, A. (2022)

#### 13.2. Unidad experimental.

**TABLA N°14:** Parcela neta.

REPETICIONES		
R1	R2	R3
C2D2	T	C1D1
C1D2	C1D1	C2D1
C2D1	C2D1	C1D2
C1D2	C2D2	C2D2
T	C1D2	T

Elaborado por: Chango, A. (2022)

### 13.3. Esquema del ADEVA

**Tabla N°15:** Esquema de análisis de variancia (ADEVA) para el cultivo de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet). Latacunga, Cotopaxi, 2022.

F de V	SC	GL
Total	(t-r-1)	14
Tratamientos	(t-1)	4
Repeticiones	(r-1)	2
Cepas	C	1
Dosis	D	1
Cepas*Dosis	CD	1
Tratamientos vs Testigo	C*T	1
Error Exp.	Diferencia	8

C.V%=

## 14. METODOLOGÍA.

El método a utilizar en este proyecto fue el método experimental, cuantitativa, dado hay que realizar el estudio del *Rhizobium* cuando sea inoculada en el *Lupinus* y observar si ayuda a incrementar la existencia de nódulos en su raíz una vez inoculado con las dosis de las dos cepas y si favorece en la fase inicial de dicho cultivo, la cual mediante la investigación cuantitativa se recogerán y analizarán datos cuantitativos obtenidas sobre las variables propuestas en este proyecto.

### 14.1. Área de estudio.

El área de estudio para realizar el proyecto se seleccionó una dimensión de 5.10 x 3.66 m<sup>2</sup> ubicado en el sector de Salache campus CAREN (UTC) pertenecientes al Cantón Latacunga, para delimitar el ares de estudio se utilizó el instrumento de GPS, donde se tomaron las coordenadas del área y para determinar el espacio a utilizar se utilizó un flexómetro.

#### **14.2. Muestreo del área de estudio (análisis de suelo inicial).**

En esta etapa se realizó un muestreo de suelo para conocer las condiciones iniciales con la que se empezó la investigación, para este estudio se recolecto una muestra de 2kg de suelo antes de colocarlas en cada funda, la muestra se tomó a una profundidad de 20cm y fue enviada a los laboratorios de TOTALCHEM Ambato, para el análisis del suelo completo donde se obtuvo las siguientes características. (Ver Anexo 06)

#### **14.3. Preparación del suelo en las fundas vivero.**

Se extrajo tierra de un terreno baldío ubicado en Salache de la Universidad Técnica de Cotopaxi campus Salache Facultad CAREN, se transportó una cantidad de 10T de tierra al sector del invernadero de la Universidad, donde se procedió a cernir la tierra con un sarán para obstruir las rocas y basura que se encontraron y obtener una tierra limpia y suave, se colocó en la fundas de 30 x 25 cm la tierra y se dejó reposar por 24 horas, después del reposo se procedió a colocar la turba (abono) desinfectada en una proporción de 40 gramos se mezcló con la tierra cernida hasta conseguir una mezcla homogénea.

#### **14.4. Preparación del Invernadero para la colación de las fundas vivero.**

Se procedió a limpiar el área designada para la colocación de las fundas de acuerdo al diseño experimental, se colocó el sistema de riego micro aspersion y el Higrotermómetro para controlar la temperatura del invernadero con el motivo de precautelar la vida de las plantas y evitar el estrés hídrico. Ya que el cultivo será observado bajo condiciones controladas.

#### **14.5. Adquisición de semillas del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) Var. INIAP-451.**

La adquisición de la semilla se lo hizo a través del departamento de granos andinos de la Universidad Técnica de Cotopaxi Facultad CAREN.

#### **14.6. Inoculación de dosis en la semilla y siembre del *Lupinus* variedad Guaranguito (INIAP-451).**

Este proceso se realizó de la siguiente manera: se colocó 36 semillas para la primera dosis en pequeños recipientes (vasos de salsa), una semilla por cada recipiente, después se colocó una 1cc de dosis a cada semilla se dejó en reposo por 5 minutos y se procedió a sembrar en las fundas designadas y el mismo proceso se realizó para la dosis de 2cc para cada semilla de chocho Guaranguito (INIAP-451).

#### **14.7. Labores pre culturales.**

El riego se realizó cada 6 a 7 días dependiendo la temperatura del invernadero y humedad de la tierra en las fundas, con un sistema de micro aspersión, también se procedió a realizar la aireación del suelo y eliminación de las plantas adventicias cada mes ya que el suelo presento compactación y esto generaba que las raíces no se desarrollen con normalidad.

#### **14.8. Toma de datos.**

En el transcurso del ciclo fenológico del cultivo del chocho se realizó la toma de datos cada 8 a 9 días según lo planificado en los datos a evaluar.

#### **14.9. Análisis de suelo final.**

Una vez extraídas las raíces del Lupinus se recolecto 5 muestras de suelo por cada tratamiento de las dos dosis y testigo, a una profundidad de 20 cm con la cantidad de 2kg, una vez recolectas las metras se enviaron a los laboratorios de TOTALCHEM en la ciudad de Ambato donde los resultados después de extracción de raíces, el suelo obtuvo las siguientes características. **(Ver Anexo 07).**

#### **14.10. Multiplicación de Rhizobium spp.**

Una vez adquirido las cepas de Rhizobium de las provincias de Cotopaxi y Tungurahua y sus características, se procedió a realizar su multiplicación a partir de las diluciones en las que llegaron las cepas, donde la parte inicial se procedió a obtener la cepas de apertura (cepas madre) donde se tomó un 1cc de las cepas adquiridas y se colocó en los medios de cultivo preparados en nutriente Agar con agua destilada, después se realizó otros medios de cultivo en nutriente Agar y se tomó muestras con una herramienta de aza de las cepas madre para ubicarlas en las cajas Petri recién preparadas y las incubamos (cepas multiplicadas), para el crecimiento se preparó medios de cultivo en PCA y se realizó el mismo procedimiento que la anterior, esto para obtener el bacterias más fuertes, por ultimo para el conteo de las UFC se realizó el procedimiento de las diluciones seriadas. **(Ver Anexo N° 9)**

**Tabla 16:** Características morfológicas del *Rhizobium* (C y T) de las colonias y bacterias aisladas.

Características	Aislado A1 Tungurahua	Aislado A2 Cotopaxi
<b><i>Colonias</i></b>		
Diámetro (mm)	2 -2.5	1.8 -2.0
Color:	Translúcidas brillantes	Beige
Forma:	Redonda	Redonda
Borde:	Liso	Liso
Elevación:	Pulvinada	Pulvinada
Consistencia:	Mucilaginosa	Suave
<b><i>Bacterias</i></b>		
Forma:	Células bacilares alargadas	Células esferoidales
Largo:	2.0m-2.5 $\mu$	0.9m-1.0 m
Ancho:	1.0 $\mu$	0.9m-1.0 $\mu$
Determinación taxonómica:	Género: <i>Rhizobium</i>	Género: <i>Rhizobium</i>
<b><i>Observaciones adicionales:</i></b>	Células que presentan septos transversales teñidos positivamente con la tinción de Gram. Tiempo de incubación de 5 a 7 días.	Tiempo de incubación 6 días

**Fuente:** (Pérez, 2021)

### 15. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.

**Tabla 17:** Análisis de la varianza en el porcentaje (%), de germinación del cultivo del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), variedad INIAP – 451 Guaranguito con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.

F.V.	14 DIAS				23 DIAS				34 DIAS				42 DIAS				51 DIAS				65 DIAS				76 DIAS			
	g l	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.			
Tratamientos	4	2,29	0,149	ns	0,95	0,484	ns	1,12	0,411	ns	1,28	0,355	ns	0,58	0,688	ns	0,62	0,662	ns	0,46	0,764	ns						
Repeticiones	2	1,33	0,318	ns	0,5	0,624	ns	0,61	0,565	ns	1,13	0,371	ns	0,25	0,783	ns	0,28	0,766	ns	0,12	0,889	ns						
Cepas	1	0,03	0,864	ns	0,10	0,756	ns	0,67	0,438	ns	0,26	0,621	ns	0,10	0,764	ns	0,02	0,884	ns	0,00	0,992	ns						
Dosis	1	0,92	0,365	ns	1,39	0,273	ns	1,59	0,242	ns	4,18	0,075	ns	1,52	0,252	ns	1,99	0,196	ns	1,21	0,303	ns						
Cepas*Dosis	1	0,94	0,361	ns	0,02	0,896	ns	0,22	0,649	ns	0,33	0,579	ns	0,12	0,736	ns	0,02	0,884	ns	0,01	0,933	ns						
Tratamientos vs testigo	1	5,56	0,046	*	2,29	0,168	ns	1,68	0,231	ns	0,54	0,485	ns	0,38	0,553	ns	0,31	0,594	ns	0,29	0,607	ns						
Error	8																											
Total	1																											
	4																											
Cv		13,81			9,52			11,9			11,85			16,8			20,72			25,10								

Nota F.V. = Fuentes de Variación, SC= Suma de Cuadrados, GL= Grados de Libertad CM= Cuadrados Medios, CV Coeficiente de Variación, NS= No Significativo, (\*) = Significancia (\*\*) = Altamente Significativo.

**Fuente:** (Chango, 2022)

### 15.1. Análisis: Porcentaje de germinación del chocho (*Lupinus mutabilis*) variedad INIAP 451 Guaranguito.

En la tabla 17 en el porcentaje de germinación del chocho (*Lupinus mutabilis*), se puede observar que existe significancia estadística ya con los resultados de análisis de varianza en los días 11 con el coeficiente de variación de 16,25% y en el día 12 con el coeficiente de variación de 11,9%, donde se puede observar que existe significancia para tratamientos vs testigo, por lo cual nos indica que la semilla que fueron sumergidas en las dos clases de *Rhizobium* spp en este día germinaron de una manera no equitativa, en los siguientes días como son el caso de los días 7 con el coeficiente de variación de 91,01% en el día 8 con 54,55% en el día 9 con 25,01% ,en el día 10 con 20,49, y en el día 13 con un coeficiente de 0, en lo cual se puede indicar que no existe significancia estadística por cual en el último día se obtuvo una germinación uniforme de las semillas del chocho (*Lupinus mutabilis*).

### 15.2. Prueba Tukey al 5% del porcentaje de germinación.

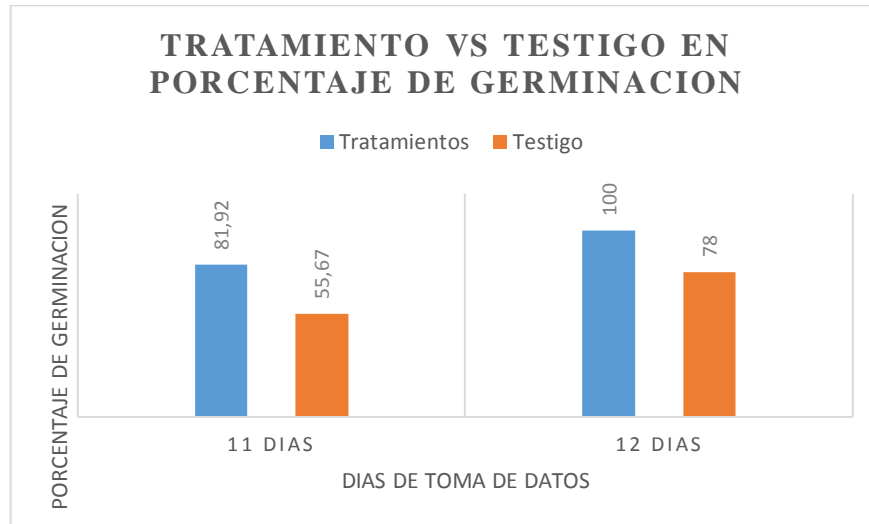
En la tabla 18 ya realizada la prueba Tukey al 5% se puede observar que los tratamientos con un promedio del 81,92% en el día 11 y de igual manera en el día 12 tiene un promedio de 100% lo cual le ubican el, primer rango de significancia lo cual nos indica que estos fueron los mejores resultados en la variable % de germinación con las dos dosis diferentes de *Rhizobium* spp ( Cotopaxi - Tungurahua), dejando en el último rango a los testigos con los promedios de 55,67% en el día 11 , con promedio de 78% en el día 12 en esta variable.

**Tabla 18:** Prueba Tukey al 5% del porcentaje de geminación.

	11 DIAS		12 DIAS	
	Medias	Rangos	Medias	Rangos
<b>Tratamientos</b>	81,92	A	100	A
<b>Testigo</b>	55,67	B	78	B

**Fuente:** (Chango, 2022)

**Figura 01:** Promedio del (%) porcentaje de germinación de chocho (*Lupinus mutabilis*) variedad INIAP – 451 Guaranguito en los días 11, 12, después de la siembra con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.



**Fuente:** (Chango, 2022)

**Discusión:** Una de las alternativas que ha sido considerada es el uso de bacterias asociadas a las raíces de las plantas, denominadas rizobacterias las cuales ayudan en el crecimiento vegetal de las plantas. Estas bacterias las cuales habitan en las raíces y ejercen efectos positivos en la germinación, crecimiento y desarrollo de las plantas, a través de diferentes mecanismos directos e indirectos los microorganismos pueden colonizar los espacios intercelulares de los tejidos radicales y algunos alcanzan el tejido vascular.

En *Rhizobium* poseen numerosos mecanismos que incitan el desarrollo vegetal como la fijación del nitrógeno la producción de fitohormonas, solubilización de fosfatos, síntesis de sideróforos que capturan el hierro y lo pueden suministrar directamente a la planta. (Marquina *et al.*, 2018)

**Tabla 19:** Análisis de la varianza en la altura de planta en el cultivo del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), variedad INIAP – 451 Guaranguito con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.

F.V.	14 DIAS			23 DIAS			34 DIAS			42 DIAS			51 DIAS			65 DIAS			76 DIAS			
	g l	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.
Tratamientos	4	2,29	0,149	ns	0,95	0,484	ns	1,12	0,411	ns	1,28	0,355	ns	0,58	0,688	ns	0,62	0,662	ns	0,46	0,764	ns
Repeticiones	2	1,33	0,318	ns	0,5	0,624	ns	0,61	0,565	ns	1,13	0,371	ns	0,25	0,783	ns	0,28	0,766	ns	0,12	0,889	ns
Cepas	1	0,03	0,864	ns	0,10	0,756	ns	0,67	0,438	ns	0,26	0,621	ns	0,10	0,764	ns	0,02	0,884	ns	0,00	0,992	ns
Dosis	1	0,92	0,365	ns	1,39	0,273	ns	1,59	0,242	ns	4,18	0,075	ns	1,52	0,252	ns	1,99	0,196	ns	1,21	0,303	ns
Cepas*Dosis	1	0,94	0,361	ns	0,02	0,896	ns	0,22	0,649	ns	0,33	0,579	ns	0,12	0,736	ns	0,02	0,884	ns	0,01	0,933	ns
Tratamientos vs testigo	1	5,56	0,046	*	2,29	0,168	ns	1,68	0,231	ns	0,54	0,485	ns	0,38	0,553	ns	0,31	0,594	ns	0,29	0,607	ns
Error	8																					
Total	1																					
	4																					
Cv		13,81			9,52			11,9			11,85			16,8			20,72			25,10		

Nota F.V. = Fuentes de Variación, SC= Suma de Cuadrados, GL= Grados de Libertad CM= Cuadrados Medios, CV Coeficiente de Variación, NS= No Significativo, (\*) = Significancia (\*\*) = Altamente Significativo.

**Fuente:** (Chango, 2022)

### 15.3. Análisis: Altura de plantas (cm) del chocho (*Lupinus mutabilis*) variedad INIAP 451 Guaranguito.

En la tabla 19 en la variable altura de las plantas de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), se puede observar que los resultados obtenidos en el análisis de varianza en los días 14, 23, 34, 42, 51, 65, 76, en lo cual se puede observar que hay significancia estadística para tratamientos vs testigos en el día 14, en los días 23, 34, 42, 51, 65, y 76 no existen significancia estadística mostrando diferentes coeficientes de variación como para el día 23 con 9,52, en el día 34 con 11,9 en el día 42 con 11,85 en el día 51 con 16,8 en el día 65 con 20,72 y en el día 76 con 25,11 lo cual nos indica que la variable altura de planta se manejó con exactitud en la investigación finalizada.

### 15.4. Prueba de Tukey al 5% en la altura de plantas.

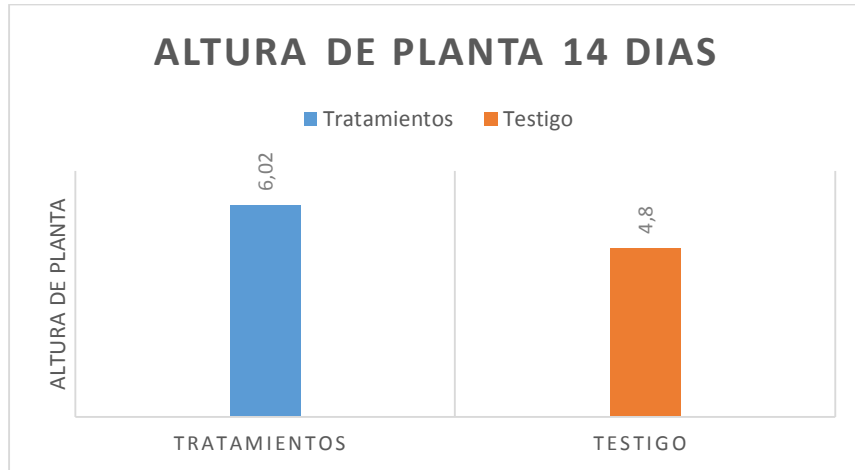
En la tabla 20 realizada la prueba Tukey al 5% se puede observar que existe diferencia entre tratamientos vs testigo, en esta variable estudiada de toda la investigación realizada los tratamientos se ubicó en el primer rango con el valor de 6,2 en los 14 días, en los demás días 23, 34, 42, 51, 65, y 76 no se tiene significancia por lo cual no indica que durante todo ese tiempo esta variable fue regular su crecimiento desde el día 23 con un promedio de 9,52 y en el día 76 con el promedio de 25,11.

**Tabla 20:** Prueba Tukey al 5% de la altura de las plantas.

	<b>Medias</b>	<b>Rango</b>
Tratamientos	6,02	A
Testigo	4,8	B

**Fuente:** (Chango, 2022)

**Figura 02:** Promedio de altura de planta del chocho (*Lupinus mutabilis*) variedad INIAP – 451 Guaranguito a partir de los 14 días con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.



**Fuente:** (Chango, 2022)

**Discusión:** En estudios realizados se llega a obtener resultados que corroboran los criterios expuestos por quienes señalan que pueden utilizarse como inoculantes del suelo para reconstruir su equilibrio biológico de igual manera mejorar la disponibilidad y asimilación de nutrientes en la planta y de esta manera, favorecer el crecimiento, productividad y protección de las plantas de cultivo.

El efecto benéfico del *Rhizobium* en el crecimiento e incremento de la productividad del fríjol lo cual obtuvieron un incremento de 1,34 t/ha más que las plantas sin inoculación. Por otro lado, cuando se trataron las semillas los aumentos fueron de 65,85 % de la producción de hojas, 36,50 % de la altura de las plantas, 37,07 % del promedio de legumbres, 44,84 % del promedio de granos por legumbres, 16,41 % de la masa de 100 granos y 100 % del rendimiento del grano en relación con el tratamiento sin control. (*Calero-Hurtado et al., 2019*)

**Tabla 21: Análisis** de la varianza en el diámetro de las plantas en el cultivo del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), variedad INIAP – 451 Guaranguito con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.

F.V.	14 DIAS			23 DIAS			34 DIAS			42 DIAS			51 DIAS			65 DIAS			76 DIAS			
	g l	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.
Tratamientos	4	2,32	0,144	ns	0,94	0,490	ns	2,14	0,166	ns	2,60	0,117	ns	2,67	0,111	ns	1,98	0,190	ns	1,18	0,389	ns
Repeticiones	2	1,09	0,382	ns	3,53	0,080	ns	0,33	0,725	ns	1,72	0,240	ns	0,03	0,974	ns	0,29	0,755	ns	0,07	0,930	ns
Cepas	1	0,07	0,801	ns	0,14	0,723	ns	0,25	0,631	ns	0,20	0,667	ns	0,30	0,599	ns	0,14	0,722	ns	0,05	0,822	ns
Dosis	1	0,01	0,933	ns	0,50	0,500	ns	2,00	0,195	ns	4,20	0,075	ns	10,70	0,011	*	4,86	0,059	ns	2,49	0,153	ns
Cepas*Dosis	1	0,07	0,801	ns	0,50	0,500	ns	0,75	0,412	ns	0,40	0,545	ns	0,10	0,760	ns	0,05	0,837	ns	0,00	0,989	ns
Tratamientos vs testigo	1	8,89	0,018	*	2,35	0,164	ns	3,71	0,090	ns	4,54	0,066	ns	4,27	0,073	ns	2,25	0,172	ns	1,65	0,235	ns
Error	8																					
Total	1																					
Cv	4	8,94			3,54			5,11			5,50			7,12			9,97			12,69		

Nota F.V. = Fuentes de Variación, SC= Suma de Cuadrados, GL= Grados de Libertad CM= Cuadrados Medios, CV Coeficiente de Variación, NS= No Significativo, (\*) = Significancia (\*\*) = Altamente Significativo.

**Fuente:** (Chango, 2022)

**15.5. Análisis: Diámetro del tallo (mm) del chocho (*Lupinus mutabilis*) variedad INIAP 451 Guaranguito.**

En la tabla 21 en la variable diámetro del tallo de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*), se puede observar que los resultados obtenidos en el análisis de varianza en el día 51 se puede observar que existe significancia estadística en la dosis con un coeficiente de variación de 7,12, de igual manera existe significancia estadística en el día 14 en los tratamientos vs testigo con un coeficiente de variación de 8,94, en los siguientes días estudiados se pudo observar que no se obtuvo significancia estadística por lo cual se llega a definir que en la variable diámetro del tallo se manejó con regularidad.

**15.6. Prueba de Tukey al 5% en la dosis en el diámetro del tallo.**

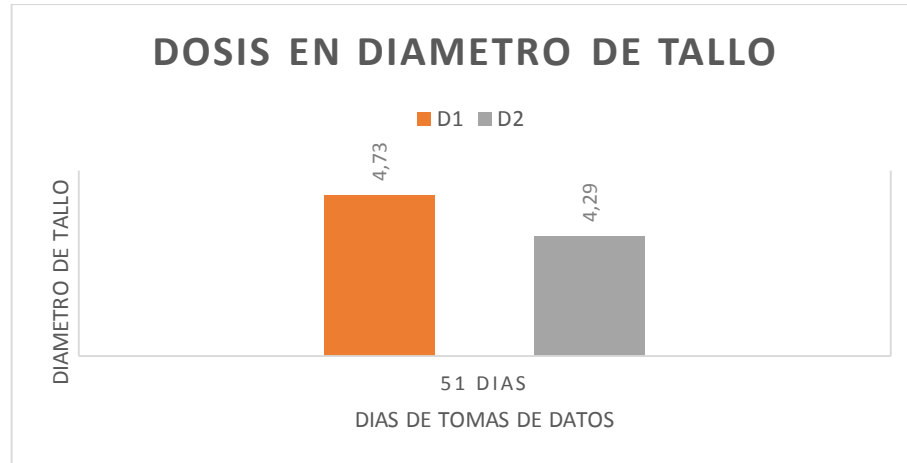
En la tabla 22 realizada la prueba Tukey al 5% se puede observar los resultados que existe diferencia significativa entre las dosis utilizadas en esta investigación en el diámetro del tallo en las diferentes etapas fenológicas del cultivo del chocho (*Lupinus mutabilis*), muestra dos rangos de significancia para la dosis e indicando un promedio en el día 51 de 4,73 mm de diámetro del tallo, lo cual indica que la dosis D1 obtuvo los mejores resultados en la variable de dosis en el DT mientras que la D2 se ubicó en el último rango de significancia estadística con una media de 4,29 y en el día 76 se llegó a obtener una igualdad en esta variable.

**Tabla 22.** Prueba de Tukey al 5% del diámetro del tallo.

51 DIAS		
Dosis	Medias	Rango
D1	4,73	A
D2	4,29	B

**Fuente:** (Chango, 2022)

**Figura 03:** Promedio del diámetro de tallo del chocho (*Lupinus mutabilis*) variedad INIAP – 451 Guaranguito a partir de los 51 días con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.



**Fuente:** (Chango, 2022)

**Discusión:** Investigadores también aseguraron que en plantas de sorgo inoculadas con varias cepas de *Rhizobium*, y este al producir ácido indol acético (AIA) provoca la iniciación radicular y elongación celular; la producción de citosinas favorece la división celular y la expansión de los tejidos, y las giberelinas influyen en la elongación de la plántula. Los resultados que obtuvieron estos investigadores demostraron la capacidad de las cepas de rizobios de influir en las variables agronómicas, ya que los tratamientos que seleccionaron igualaron a los valores del control fertilizado y presentaron un incremento de más del 100% del peso seco aéreo, comparado con el control. (Ferrel & Soriano, 2014)

### 15.7. Prueba de Tukey al 5% en la dosis en el diámetro del tallo tratamientos vs testigos.

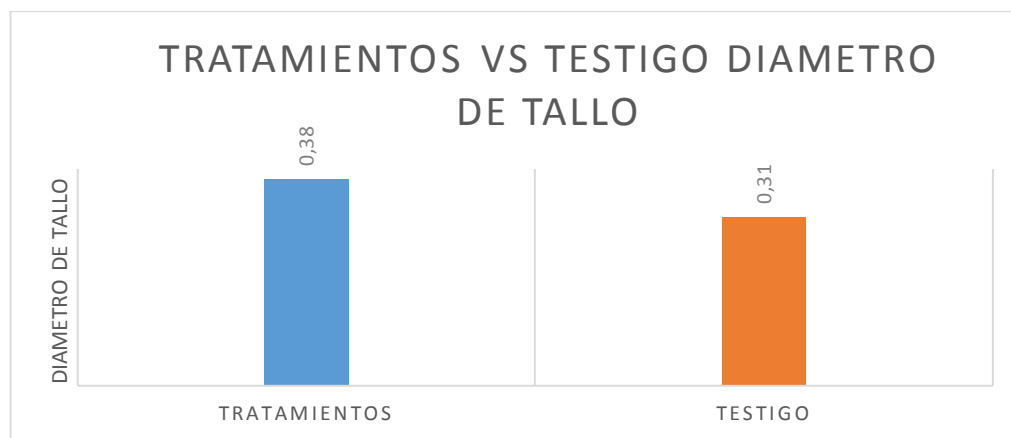
En la tabla 23 realizada la prueba Tukey al 5% se puede observar que existe diferencia entre tratamientos vs testigos, en esta variable estudiada en toda la investigación realizada los tratamientos se ubicó en el primer rango con el valor de 0,38 en los 51 días en los demás días que son 14, 23, 34, 42, 65 y 76 no se tiene significancia por lo cual no indica que durante todo ese tiempo esta variable fue regular su diámetro de tallo desde día 14 con un promedio de 8,94 y en el día 76 con un promedio 12,69.

**Tabla 23:** Prueba Tukey al 5%, tratamientos vs testigos del diámetro de tallo.

14 DIAS		
	Medias	Rango
Tratamientos	0,38	A
Testigo	0,31	B

**Fuente:** (Chango, 2022)

**Figura 04:** Promedio del diámetro de tallo del chocho (*Lupinus mutabilis*) variedad INIAP – 451 Guaranguito a partir de los 14 días con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.



**Fuente:** (Chango, 2022)

**Discusión:** La acción realizada por *Rhizobium* posiblemente aportó las fitohormonas de las cuales la giberelinas podría ser la que produjo más, permitiendo así obtener plántulas con mayor altura, densidad radicular, longitud de raíz mayor y peso seco de la parte aérea al compararla con los controles respectivos así promoviendo de esta manera el crecimiento de las plántulas, contribuyendo a fomentar la creciente demanda de alimentos de calidad y de bajo costo de producción, por ende, la utilización de esta rizobacterias con capacidad para promover el crecimiento de las plántulas son una gran alternativa de biofertilización. (Ferrel & Soriano, 2014)

**Tabla 24:** Análisis de la varianza en el número de hojas en el cultivo del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), variedad INIAP – 451 Guaranguito con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.

F.V.	14 DIAS			23 DIAS			34 DIAS			42 DIAS			51 DIAS			65 DIAS			76 DIAS			
	g l	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.	F	p-valor	si g.
Tratamientos	4	1,93	0,199	ns	3,81	0,051	ns	0,71	0,610	ns	0,98	0,470	ns	1,57	0,271	ns	0,99	0,467	ns	2,16	0,164	ns
Repeticiones	2	0,81	0,479	ns	1,13	0,371	ns	0,06	0,946	ns	0,06	0,941	ns	0,17	0,845	ns	0,19	0,827	ns	0,15	0,862	ns
Cepas	1	0,07	0,803	ns	0,40	0,545	ns	0,15	0,708	ns	0,77	0,405	ns	0,39	0,549	ns	0,02	0,890	ns	0,37	0,560	ns
Dosis	1	0,27	0,620	ns	7,60	0,025	*	0,85	0,384	ns	1,89	0,207	ns	4,69	0,062	ns	3,05	0,119	ns	5,59	0,046	*
Cepas*Dosis	1	0,53	0,486	ns	0,10	0,760	ns	0,28	0,609	ns	0,01	0,922	ns	0,02	0,884	ns	0,03	0,864	ns	0,51	0,494	ns
Tratamientos vs testigo	1	6,18	0,038	*	5,99	0,040	*	0,89	0,372	ns	0,49	0,503	ns	1,1	0,325	ns	0,79	0,399	ns	1,52	0,253	ns
Error	8																					
Total	1																					
	4																					
Cv		27,74			7,64			10,88			12,25			14,77			24,51			22,52		

Nota F.V. = Fuentes de Variación, SC= Suma de Cuadrados, GL= Grados de Libertad CM= Cuadrados Medios, CV Coeficiente de Variación, NS= No Significativo, (\*) = Significancia (\*\*) = Altamente Significativo.

**Fuente:** (Chango, 2022)

### 15.8. Análisis del número de hojas del chocho (*Lupinus mutabilis*) variedad INIAP 451 Guaranguito.

En la tabla 24 en la variable número de hojas del plantas de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*), se puede observar que los resultados obtenidos en análisis de varianza en el día 23 donde se puede observar que existe significancia estadística en la dosis con un coeficiente de variación de 7,64, de igual manera se obtiene significancia estadística a los 76 días con el coeficiente de variación de 22,52, dando como consecuencia que en esta variable las dosis tuvieron mucha influencia a los 76 días de la investigación, en esta variable igual existe significancia estadística en tratamientos vs testigos en los siguientes días como fue en el día 14 con un coeficiente de variación de 27,74 y en el día 23 con 7,64 en los demás días se llegó a tener una igualdad de la variable en número de hojas.

### 15.9. Prueba de Tukey al 5% en la dosis en el número de hojas.

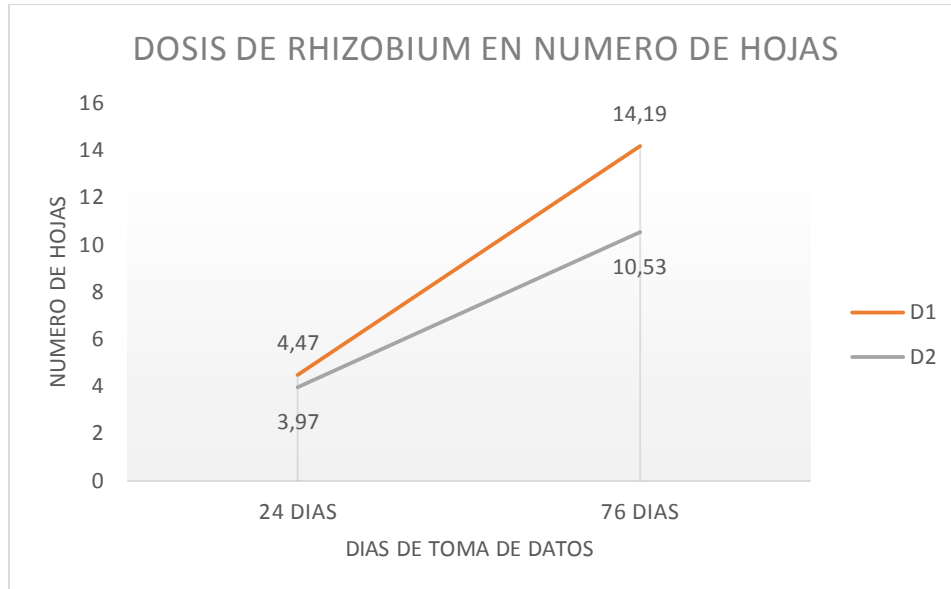
En la tabla 25 realizada la prueba Tukey al 5% se observa que existe diferencia entre las dosis en la variable número de hojas en los diferentes días de la etapa fenológica de crecimiento de las plantas de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) mostrando dos rangos de significancia para las dosis en el día 23 con un promedio de 4,47 hojas ubicándose en el rango (A) de variación, para el día 76 con un promedio de 14,19 hojas ubicándose en el rango (A) de variación dando como resultado que la dosificación D1 fue la que mejores resultados se obtuvo.

**Tabla 25:** Prueba Tukey al 5% para el número de hojas.

Dosis	23 DIAS		76 DIAS	
	Medias	Rango	Medias	Rango
D1	4,47	A	14,19	A
D2	3,97		10,53	B

**Fuente:** (Chango, 2022)

**Figura 05:** Promedio para el número de hojas del chocho (*Lupinus mutabilis*) variedad INIAP – 451 Guaranguito a partir de los 24 a 76 días con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.



**Fuente:** (Chango, 2022)

**Discusión:** La inoculación con *Rhizobium* en plantas de fríjol de forma individual o asociada fue eficiente en promover el incremento del crecimiento, este efecto benéfico de la inoculación con *Rhizobium* en plantas de fríjol ya que en el estudio realizado se observó el aumento del número de hojas trifoliadas en 14,5 en relación con el control sin inoculación. En ese sentido el fríjol, como otras leguminosas lograron estimular significativamente el número de hojas en relación con el control sin inocular. (Calero-Hurtado et al., 2019)

#### **15.10. Prueba de Tukey al 5% en la dosis en el número de hojas (tratamientos vs testigos).**

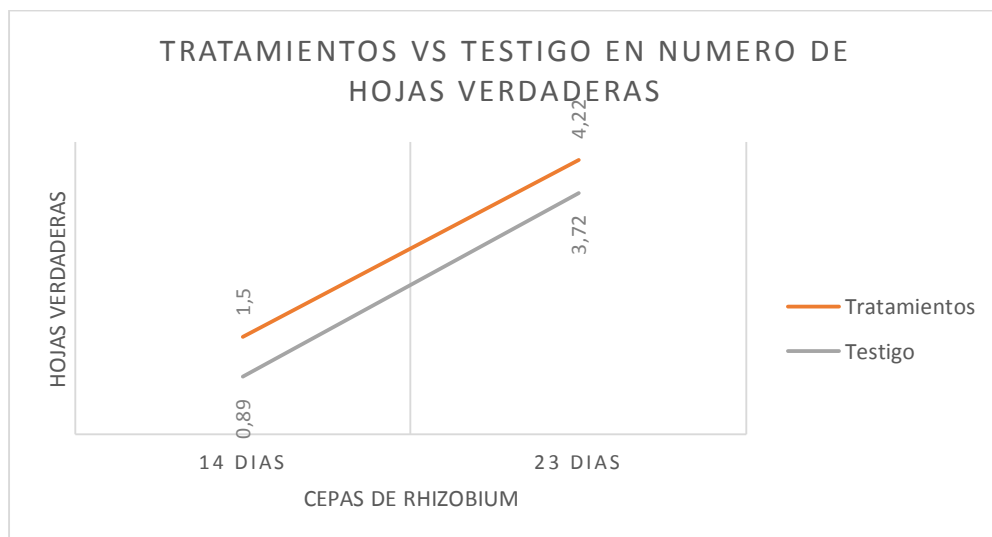
En la tabla 26 realizada la prueba Tukey al 5% se puede observar que existe diferencia entre tratamientos vs resto en esta variable estudiada en toda la investigación realizada los tratamientos se ubicó en el primer rango con el valor de 1,5 a los 14 días y con el valor de 4,22 a los 23 días en los demás días que son 34, 42, 51, 65 y 76 no se tiene significancia por lo cual no indica que durante todo ese tiempo esta variable fue regular con en número de hojas desde día 34 con un promedio de 10,88 y en el día 76 con un promedio 22,52. Ubicándoles a los testigos en el último rango cual es el (B).

**Tabla 26:** Prueba Tukey al 5%, tratamientos vs testigos para el número de hojas.

	14 DIAS		23 DIAS	
	Medias	Rango	Medias	Rango
Tratamientos	1,5	A	4,22	A
Testigo	0,89	B	3,72	B

Fuente: Chango, 2022)

**Figura 06:** Promedio para el número de hojas del chocho (*Lupinus mutabilis*) variedad INIAP – 451 Guaranguito a partir de los 14 a 23 días con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.



Fuente: (Chango, 2022)

**Discusión:** En la aplicación de forma individual o combinada promovió las plantas de fríjol. Esto ocurre principalmente porque la aplicación de la forma foliar mejora el crecimiento del follaje (22 %), por lo tanto, se aumenta el área del follaje de las plantas, lo que se traduce en una mayor elaboración de nutrimentos para la planta y, por ende, en un incremento de su productividad. (Calero-Hurtado et al., 2019)

**Tabla 27:** Análisis de la varianza en los nódulos del cultivo del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), variedad INIAP – 451 Guaranguito con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	sig.
Tratamientos	6,18	4	1,55	51,04	<0,0001	*
Repeticiones	0,49	2	0,25	8,14	0,0118	*
Cepas	1,69	1	1,69	56,33	0,0001	*
Dosis	1,44	1	1,44	48,00	0,0001	*
Cepas*Dosis	2,82	1	2,82	94,00	0,00001	*
Tratamientos vs testigo	0,13	1	0,13	4,44	0,0682	ns
Error	0,24	8	0,03			
Total	6,92	14				
Cv	20,33					

Nota: F.V. = Fuentes de Variación, SC= Suma de Cuadrados, GL= Grados de Libertad CM= Cuadrados Medios, CV Coeficiente de Variación, NS= No Significativo, (\*) = Significancia (\*\*) = Altamente Significativo.

**Fuente:** (Chango, 2022)

#### 15.11. Análisis del número de nódulos encontrados en la raíz del *Lupinus mutabilis* variedad INIAP 451 Guaranguito.

En la siguiente tabla N° 27, se puede observar ya realizada el análisis de varianza para la variable estudiada en este caso en los nódulos se puede observar que hay significancia estadística en las fuentes de variación de tratamientos. Repeticiones, cepas, dosis, cepas\*dosis las demás fuentes no tienen significancia estadística y el coeficiente es de 20,33.

#### 15.12. Prueba de Tukey al 5% en los nódulos de la raíz del *Lupinus*.

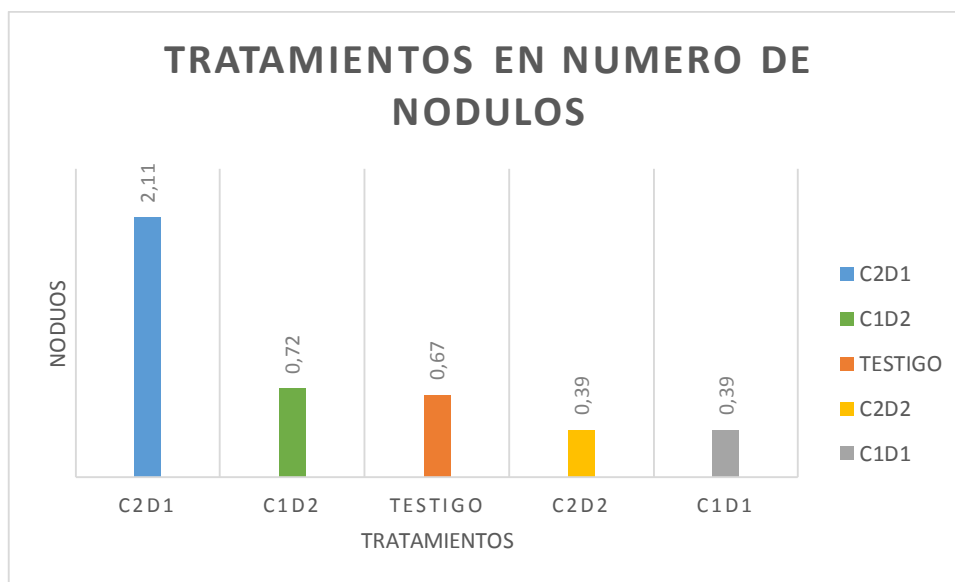
En la tabla 28 en la prueba Tukey al 5% se observa que existe diferencia entre tratamientos en la variable de número de nódulos a los 77 días se puede observar que el C2D1 se ubica en el primer lugar con el rango (A) dando como el mejor resultado de la investigación realizada este tratamiento, en cambio en el último lugar se encuentra el tratamiento C1D1 con el promedio de 0,39 dejándole como bajo rendimiento de esta variable.

**Tabla 28:** Prueba Tukey al 5% para los nódulos formados por las dos dosis vs el testigo en la raíz del Lupinus.

Tratamientos	Medias	Rangos
C2D1	2,11	A
C1D2	0,72	B
TESTIGO	0,67	B
C2D2	0,39	B
C1D1	0,39	B

**Fuente:** (Chango, 2022)

**Figura 07:** Promedio para el número de nódulos en la raíz del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) variedad INIAP – 451 Guaranguito a partir de los 83 días con dos diferentes cepas de *Rhizobium* spp (Cotopaxi – Tungurahua) a dos dosis 1cc – 2cc.



**Fuente:** (Chango, 2022)

**Discusión:** La inoculación con *Rhizobium* es beneficiosa en leguminosas de grano al mejorar la productividad, tanto en la nodulación como en el rendimiento; esto trasciende a pequeños agricultores que no utilizan fertilizantes inorgánicos.

Este estudio procura brindar una alternativa de solución con la aplicación del inoculante en la dosis adecuada en cultivos de vainita, cuyos resultados puedan contribuir a la disminución de fertilizantes, Por tanto, en esta investigación se determinó la influencia de la inoculación con diferentes concentraciones sobre el rendimiento del cultivo de vainita. (*Agraria et al., 2017*)

### 15.13. Prueba de Tukey al 5% en cepas en los nódulos de la raíz.

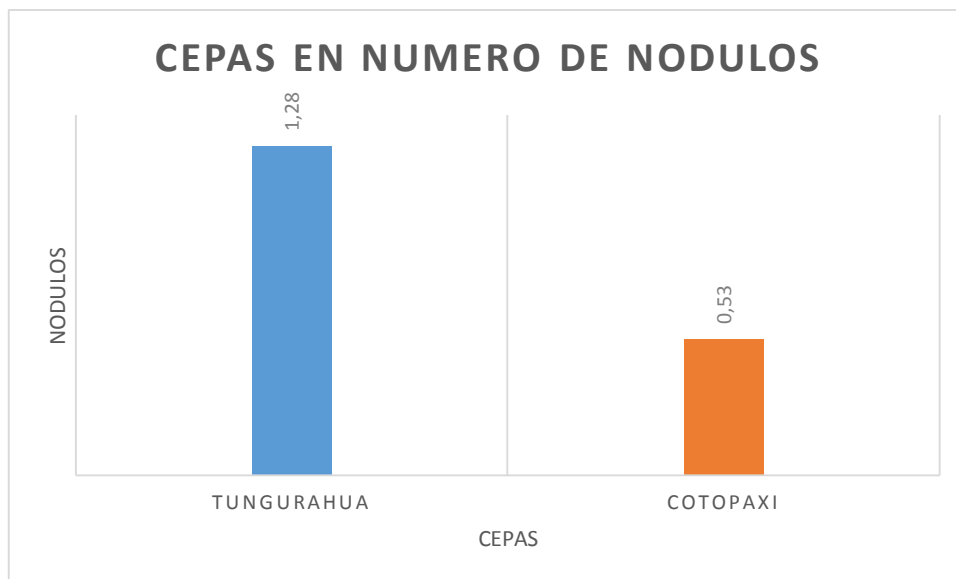
En la tabla 29 realizada la prueba Tukey al 5% se puede observar que la cepa C2D1 (Tungurahua) se encuentra en el rango (A) de significancia durante la investigación con un promedio de 1,28, dando como mejores resultados finales en el número de nódulos en la investigación del cultivo de chocho (*Lupinus mutabilis*).

**Tabla 29:** Prueba de Tukey al 5% para número de nódulos de Cotopaxi y Tungurahua.

CEPAS	Medias	Rangos
Tungurahua	1,28	A
Cotopaxi	0,53	B

**Fuente:** (Chango, 2022)

**Figura 08:** Promedio para el número de nódulos para las dos cepas de *Rhizobium* (Cotopaxi – Tungurahua) en la raíz del chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) variedad INIAP – 451 Guaranguito a partir de los 77 días a dos dosis 1cc – 2cc.



**Fuente:** (Chango, 2022)

#### 15.14. Prueba de Tukey al 5% en dosis en los nódulos de la raíz.

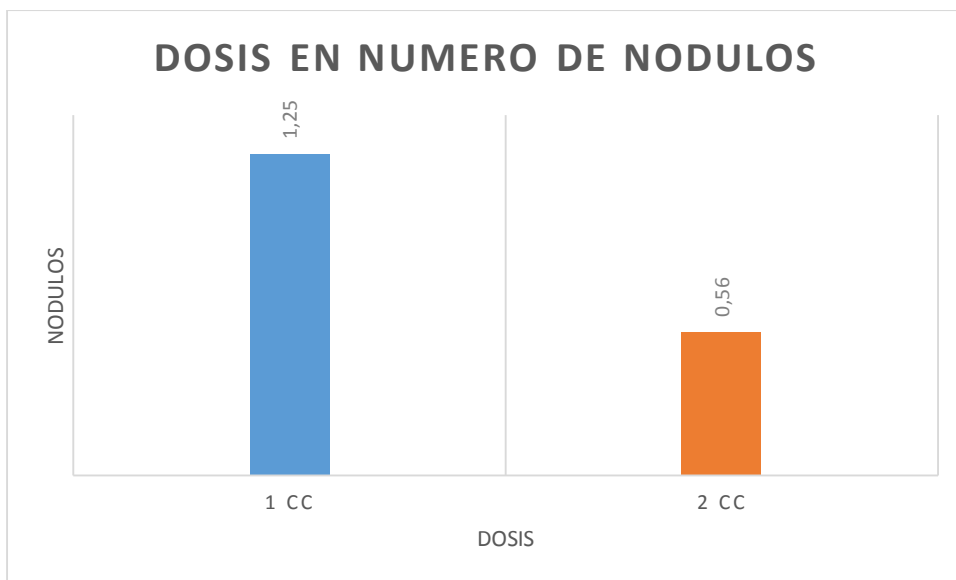
En la tabla 30 realizada la prueba Tukey al 5% se puede observar que la dosis C2D1 (Tungurahua) se encuentra en el rango (A) de significancia durante la investigación con un promedio de 1,25, dando como mejores resultados finales en el número de nódulos en la investigación del cultivo de chocho (*Lupinus mutabilis*).

**Tabla 30:** Prueba de Tukey al 5% en los nódulos de la raíz (T).

DOSIS	Medias	Rangos
C2D1-1 cc	1,25	A
C2D2-2 cc	0,56	B

**Fuente:** (Chango, 2022)

**Figura 09:** Promedio para el número de nódulos de acuerdo a las dosis aplicadas en el cultivo de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) var. INIAP-451, Guaranguito.



**Fuente:** (Chango, 2022)

#### 15.15. Prueba de Tukey al 5% en cepa\* dosis en los nódulos de la raíz.

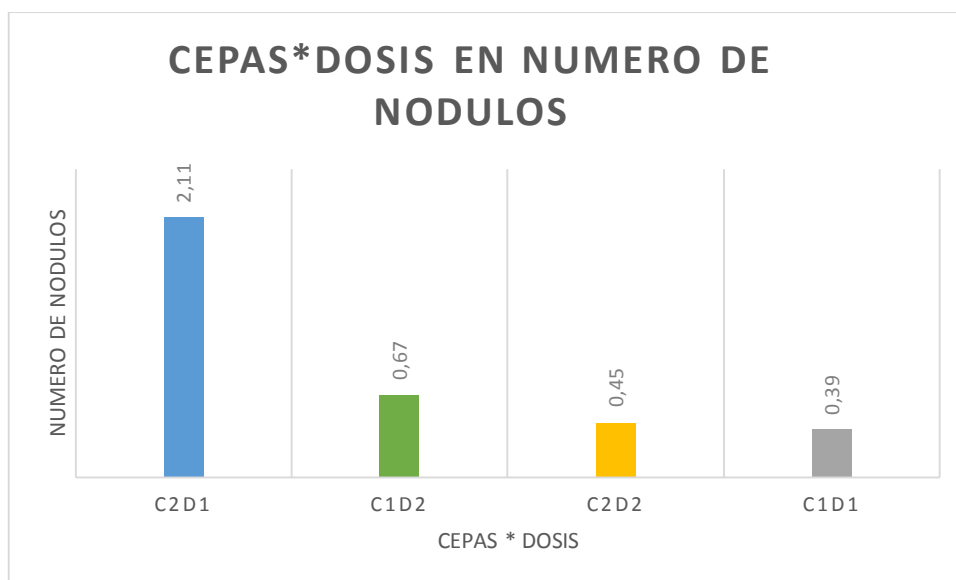
En la tabla 31 realizada la prueba Tukey al 5% se puede observar que la dosis C2D1 (Tungurahua) se encuentra en el rango (A) de significancia durante la investigación con un promedio de 1,25, dando como mejores resultados finales en el número de nódulos en la investigación del cultivo de chocho (*Lupinus mutabilis*).

**Tabla 31:** Prueba de Tukey al 5% para cepa\*dosis de los nódulos en la raíz.

Cepas * dosis	Medias	Rangos
C2D1	2,11	A
C1D2	0,67	B
C2D2	0,45	B
C1D1	0,39	B

**Fuente:** (Chango, 2022)

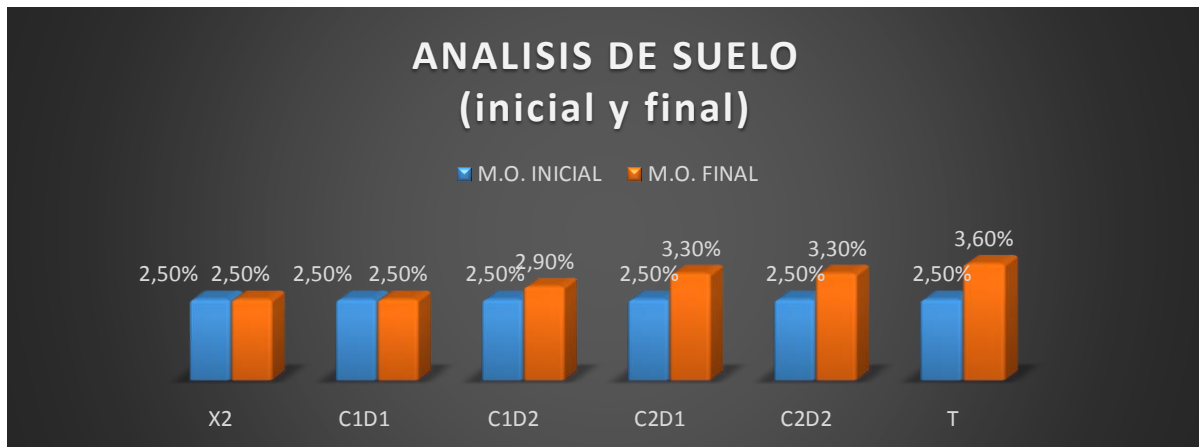
**Figura 10:** Promedio para el número de nódulos de acuerdo a las dosis aplicadas (CEPAS\*DOSIS) en el cultivo de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) var. INIAP-451, Guaranguito.



**Fuente:** (Chango, 2022)

### 15.16. Análisis de suelo inicial y final.

**Figura 11:** Análisis de suelo inicial y final del cultivo de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), INIAP-451 guaranguito.



**Fuente:** (Chango, 2022)

**Análisis:** Al realizar este proyecto en el suelo inicial la materia orgánica se inició con 2,5 % demostrando un nivel bajo, con un pH de 7,75 siendo ligeramente alcalino, una vez extraído las raíces del *Lupinus* a los 4 meses se recogió 2 kg de cada tratamiento y testigo para realizar los análisis finales del suelo, obteniendo los siguientes resultados; el tratamiento C1D1 no demostró significancia manteniendo el 2,5 % de M.O. nivel bajo. El C1D2 incremento un 2,9 % M.O nivel bajo. Los tratamientos C2D1 y C2D2 mostraron una significancia de 3.3 % de M.O. en nivel medio, mejorando los recursos del suelo para el cultivo de Chocho. En cambio, el testigo sobre paso a todos los tratamientos con un 3,6 % de M.O. en nivel medio, demostrando que la planta de chocho si mejora los suelos pobres en nutrientes, pero su crecimiento fue retrasado a comparación con los tratamientos con dosis. Todos los tratamientos mantuvieron un pH entre 7,3 a 7,6 ligeramente alcalino.

**Discusión:** se realizaron ensayos en macetas para este estudio, estas macetas contenían dos tipos de suelos (arcilla y arena), estas fueron inoculadas con las cepas (*Cupriavidus* otro género de la bacteria *Rhizobium*) se realizó una coinoculación con ambas, los resultados obtenidos fue que los suelos de esta cepa presento ser competitiva, recuperando la mayor parte de los nódulos. Esta se realizó en la planta *Mimosa pudica* junto a estos dos suelos. (Eastman & Platero, 2020)

## 16. CONCLUSIONES

- La adaptabilidad de las cepas de *Rhizobium* en el cultivo de *Lupinus mutabilis Sweet* inoculado con las dosis, la mejor adaptabilidad la obtuvo las dos cepas (C y T), demostrando plantas vigorosas, con media en tratamientos de 81,92 rango A en germinación, altura de planta con medias de 6,02 rango A y en diámetro de tallo con una media de 0,38 rango A, ubicando a los testigos en el rango B hasta el final de la investigación.
- Se conoció el mejor inoculo de *Rhizobium* la cual fue la dosis C2D1 Tungurahua, obteniendo resultados satisfactorios como en el diámetro de tallo con una media final 4,73 a los 51 días en rango A, en el número de hojas también presento significancia con una media de 14,19 a los 72 días con rango A para esta dosis (C2D1), sobre pasando a las dosis de Cotopaxi (D1 y D2) y la de Tungurahua D2.
- Una vez extraída la raíz a los 77 días se contabilizo el número de nódulos con los siguientes resultados, se concluyó que la dosis C2D1 presento una media de 2,11 en rango A presentando un número total de 38 nódulos con una raíz pivotante ramificada y fuerte llegando al tamaño de 30cm, sobrepasando a las demás dosis aplicadas en el cultivo de chocho donde los datos más bajos obtenidos fue de la dosis C1D1 con medias de 0,39.
- En la multiplicación de *Rhizobium* se pudo concluir que las cepas en reproducirse más rápido fue la cepa de Cotopaxi a los 3 días en la incubadora a 30°C presentado un color amarillento, mientras que la de Tungurahua se observó un color celeste transparente a los 4 días, donde una vez realizado las diluciones seriadas se contabilizo que la cepa de Cotopaxi trabajo con  $4.4 \times 10^{-1}$  UFC y la de Tungurahua con  $2.5 \times 10^{-1}$  UFC, es donde aquí se puede decir que la bacteria rizobios no son iguales y trabajan de forma diferente con FBN en la planta que se encuentren hospedadas (leguminosas).

## **17. RECOMENDACIONES**

- Con la inoculación de la bacteria *Rhizobium* en las plantas leguminosas como en el chocho y a dosis correctas se puede acelerar el crecimiento de estos cultivos, así mejorando su producción y disminuyendo la aplicación de fertilizantes nitrogenados y optar por lo natural que es la aplicación de esta bacteria *Rhizobium* y que realice la FBN en sus raíces.
- En esta investigación la mejor dosis recomendada fue la de Tungurahua con 1cc, pero en condiciones controladas, donde, la recomendación sería realizar una investigación con los mismos parámetros de esta tesis, pero aplicados en el campo en condiciones no controladas (intemperie) para así realizar una comparación de datos estadísticos y la adaptabilidad de la bacteria si es la misma o genera cambios en la FBN y la formación de nódulos.
- Para realizar la multiplicación de las bacterias rizobios es importante contar con las características de la bacteria adquirida, ya que todos estos microorganismos tienen forma y singularidad muy diferentes, ya que esto nos facilitaría el trabajo a realizar inóculos de ellas y aplicar de forma correcta a cualquier planta perteneciente a la familia de las leguminosas.

## 18. REFERENCIAS

- Abril Porras, V. (2015). La importancia del Lupino en el mantenimiento y mejoramiento de la fertilidad del Suelo. *X CONGRESO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA ESPE*, 0(0), 22–23.
- Agraria, U. N., Molina, L., Nacional, U., La, A., & Lima, M. (2017). *Ecología Aplicada*. *Ecología Aplicada*, 16(2), 91–98. <https://doi.org/10.21704/rea.v16i2.1012>
- Almeida Cuastumal, J. L. (2015). “Evaluación del rendimiento de cuatro ecotipos de chocho (*Lupinus mutabilis*), en el Centro Experimental San Francisco, en Huaca – Carchi”. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI.
- Bioseorganics. (2016). *Descripción de la cepa de Rhizobium*. <https://www.bioseb.org/>
- Calero-Hurtado, A., Pérez Díaz, Y., Quintero Rodríguez, E., Olivera Viciedo, D., & Peña Calzada, K. (2019). Efecto de la aplicación asociada entre *Rhizobium leguminosarum* y microorganismos eficientes sobre la producción del fríjol común. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 20(2), 295–308. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol20\\_num2\\_art:1460](https://doi.org/10.21930/rcta.vol20_num2_art:1460)
- Castillo, J. (1998). *Diagnóstico y Evaluación de resistencia del chocho *Lupinus mutabilis* Sweet a la pudrición radicular*. Universidad Nacional de Loja.
- Castillo, J., & Ochoa, J. (2001). El Cultivo de Chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) Fitonutrición, Enfermedades y Plagas, en el Ecuador. *Enfermedades Del Chocho*, 103, 19–29.
- Croci, C. (2020). *Dinámica de la expresión de los nod de rizobios pertenecientes al género *Cupriavidus**. Universidad de la República Uruguay.
- Cronquist, A. (1988). The Evolution and Classification of FLOWERING PLANTS. *Bronx, New York, U.S.A.: New York Botanical Garden*, 0(Botanica Garden), 10–20.
- Cuadrado, B., Rubio, G., & Santos, W. (2009). Caracterización de cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (con habilidad de nodulación) seleccionados de los cultivos de fríjol caupi (*Vigna unguiculata*) como potenciales bioinóculos. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, 38 (1)(1), 79–82.
- Eastman, B. I., & Platero, R. (2020). *Efecto del tipo de suelo en la selección de rizobios simbioses por *Mimosa* spp. del Uruguay*. 1–4.
- ECOGRAINS, & Cultivos Andinos – FAO. (2014). *Características del Tarwi, TARWI o CHOCHO (*Lupinus Mutabilis*)*. 01.
- ECURED. (2020). *RHIZOBIUM - ECURED*. 01. <https://www.ecured.cu/Rhizobium>
- El Telégrafo Ecuador. (2016). *El déficit de chocho llega a 6.397 toneladas*. 17 - 12. <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/4/el-deficit-de-chocho-llega-a-6-397-toneladas>
- Estrella, E. (1998). *El Pan de América. Etnohistoria de los alimentos aborígenes del Ecuador* (3ª edición). FUNDACYT.

- Ferrel, N., & Soriano, B. (2014). Efecto de *Rhizobium etli* en el crecimiento de plántulas de caña de azúcar, *Saccharum officinarum*, en condiciones de laboratorio. *Rebiolest*, 2(1), 1–12.
- FERTIVEG AGRI, s. I. (2021). *NITROCODE RB, concentrado de bacterias del Género Rhizobial*. Nutrición Avanzada Para Tus Cultivos.  
<http://www.fertivegagri.com/Catalogo/Detalle?p=001141&a=1>
- Hamdi, Y. (1985). La fijación del nitrógeno en la explotación de los suelos. *Boletín de Suelos de La FAO N°*, 49(0), 0.
- INIAP. (2014). *Chocho - Lupinus mutabilis swwet*. 1.  
<http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mgranos/rchocho>
- INIAP. (2016). *El INIAP realiza investigación en chocho, alimento natural rico en proteínas, que se cultiva en varias provincias de la Sierra ecuatoriana*. 01.  
<http://www.iniap.gob.ec/pruebav3/el-iniap-realiza-investigacion-en-chocho-alimento-natural-rico-en-proteinas-que-se-cultiva-en-varias-provincias-de-la-sierra-ecuatoriana/>
- Kuykendall, D. (2005). Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática. *Springer Estadounidense*, 1(0), 0.
- La Hora. (2016). *Antes de sembrar el chocho, prevenga todo tipo de enfermedades*.
- Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B., & Lock, M. (2005). Legumes of the World. In *Royal Botanic Gardens. Kew, UK* (Vol. 01, Issue 0).
- Lloret, L., & Martínez Romero, E. (2005). Evolución y filogenia de *Rhizobium*. *Revista Latinoamericana de Microbiología ALAM*, 47(0), 1–5.
- López Alcocer, J., Lépiz Ildefonso, R., González Eguiarte, D., Rodríguez Macías, R., López Alcocer, E., & Olalde Portugal, V. (2017). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y BIOQUÍMICA DE CEPAS DE *Rhizobium* COLECTADAS EN FRIJOL COMÚN SILVESTRE Y DOMESTICADO. *Fitotec. Mexico*, 40(CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE *Rhizobium* EN FRIJOL), 73–74. <https://www.redalyc.org/pdf/610/61050549010.pdf>
- LÓPEZ, E., CISNEROS, S., & OCHOA, J. (2016). Procesos de bioestimulación para la remediación de suelos agrícolas contaminados con tebuconazol y  $\lambda$ -cialotrina. *Revista de Simulación y Laboratorio*, 03(0), 01–05.
- Marquina, M. E., Ramírez, Y., & Castro, Y. (2018). Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón *Capsicum annuum* L. var. Cacique Gigante. *Bioagro*, 30(1), 3–16. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-33612018000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612018000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Matos Cuzcano, G., & Zúñiga Dávila, D. (2003). VIABILIDAD DE CEPAS DE RIZOBIOS EN INOCULANTES BASADOS EN SOPORTES NO ESTÉRILES. *Ecología Aplicada*, 02, 81–84.
- Nápoles, M., Gómez, G., & Costales, D. (2007). FACTORES DE NODULACIÓN. EXPERIENCIA EN CUBA. *Cultivos Tropicales*, 28(0), 75–76.

- Nápoles, M., Gómez, G., & Costales, D. (2008). FACTORES DE NODULACIÓN. EXPERIENCIA EN CUBA Cultivos Tropicales. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas Cuba*, 29(0), 71–80.
- Paredes, M. C. (2013). *Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria* [Universidad Católica Argentina]. <https://repositorio.uca.edu.ar/handle/123456789/393>
- Peralta, E., Rivera, M., Murillo, A., Mazón, N., & Monar, C. (2010). INIAP 451 GUARANGUITO Nueva variedad de chocho para la provincia de Bolívar. *INIAP - Estación Experimental Santa Catalina*, 382(0), 01–04.
- Villacrés, E., Rubio, A., Egas, L., & Segovia, G. (2006). USOS ALTERNATIVOS DEL CHOCHO. *Departamento Nutrición y Calidad de Los Alimentos INIAP Facultad de Ciencias e Ingeniería En Alimentos UTA*, 0(0), 4–5.
- Wang, E. T., Martínez Romero, J., & López Lara, I. (2002). Rhizobium y su destacada simbiosis con plantas. *Centro de Investigación Sobre Fijación de Nitrógeno, Universidad Nacional Autónoma de México*, 8(0), 01. <https://doi.org/968-36-8879-9>

## 19. ANEXOS

### Anexo 1. Aval de traducción.



UNIVERSIDAD  
TÉCNICA DE  
COTOPAXI



CENTRO  
DE IDIOMAS

## *AVAL DE TRADUCCIÓN*

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

La traducción del resumen al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: “**EVALUACIÓN DE DOS CEPAS (COTOPAXI Y TUNGURAHUA) DE RHIZOBIUM SPP A DOS DOSIS EN (*Lupinus mutabilis Sweet*) VAR. INIAP-451 (GUARANGUITO), CEASA- COTOPAXI. 2022,**” presentado por: **Chango Taco Alex Roberto**, egresado de la Carrera de: **Ingeniería Agronómica**, perteneciente a la **Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

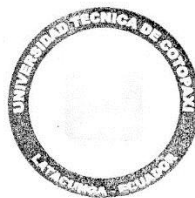
Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

Latacunga, marzo del 2022

Atentamente,





























































































Presado, e autenticamente por:  
**MAYRA CLEMENCIA  
NOROÑA HEREDIA**



CENTRO  
DE IDIOMAS

**Mg. Mayra Clemencia Noroña Heredia**  
**DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC**  
**CI: 0501955470**

## Anexo 2. Diseño de campo.

VARIEDAD: INIAP - 451 GUARANGUITO			FECHA DE SIEMBRA: 12/10/2021						
<b>REPETICION I</b>			<b>REPETICION II</b>			<b>REPETICION III</b>			<b>FACTOR A</b>
C2D2			TESTIGO			C1D1			C1 = Cotopaxi
 3	 2	 1	 3	 2	 1	 3	 2	 1	C2= Tungurahua
 6	 5	 4	 6	 5	 4	 6	 5	 4	
C1D2			C1D1			C2D1			<b>FACTOR B</b>
 3	 2	 1	 3	 2	 1	 3	 2	 1	D1= 1cc
 6	 5	 4	 6	 5	 4	 6	 5	 4	D2=2cc
C2D1			C2D1			C1D2			
 3	 2	 1	 3	 2	 1	 3	 2	 1	
 6	 5	 4	 6	 5	 4	 6	 5	 4	
C1D1			C2D2			C2D2			Ancho: 0.80 m
 3	 2	 1	 3	 2	 1	 3	 2	 1	Largo: 1.10 m
 6	 5	 4	 6	 5	 4	 6	 5	 4	Camino: 0.50 m
TESTIGO			C1D2			TESTIGO			
 3	 2	 1	 3	 2	 1	 3	 2	 1	
 6	 5	 4	 6	 5	 4	 6	 5	 4	

Elaborado por: (Chango, 2022)

### Anexo 3. Datos de los indicadores evaluados.

#### Porcentaje de germinación.

REPETICIONES	TRATAMIENTO	CODIGO	% GER 7 DIAS	% GER 8 DIAS	% GER 9 DIAS	% GER 10 DIAS	% GER 11 DIAS	% GER 12 DIAS	% GER 13 DIAS
1	1	C2D2	0	33	50	67	83	100	100
1	2	C1D2	33	50	50	67	83	100	100
1	3	C2D1	17	50	67	67	83	100	100
1	4	C1D1	0	17	50	67	100	100	100
1	5	T	50	67	67	67	67	100	100
2	1	T	17	17	33	33	50	83	100
2	2	C1D1	17	17	33	50	67	100	100
2	3	C2D1	17	17	33	33	67	100	100
2	4	C2D2	17	50	50	50	67	100	100
2	5	C1D2	0	17	50	67	83	100	100
3	1	C1D1	0	17	33	50	83	100	100
3	2	C2D1	17	50	67	67	100	100	100
3	3	C1D2	33	67	67	67	100	100	100
3	4	C2D2	0	17	50	50	67	100	100
3	5	T	0	0	33	33	50	50	100

**Altura de planta.**

REPETICIONES	TRATAMIENTO	CODIGO	ALTURA Día 14 (cm)	ALTURA Día 23 (cm)	ALTURA Día 34 (cm)	ALTURA Día 42 (cm)	ALTURA Día 51 (cm)	ALTURA Día 65 (cm)	ALTURA Día 76 (cm)
1	1	C2D2	5.83	13	19.17	24.5	30.33	35.83	45.17
1	2	C1D2	7	13	19.5	23.67	32.5	38.67	43.5
1	3	C2D1	6.5	15.5	22.58	27.75	32.17	36	39.17
1	4	C1D1	5	13	20.17	26.83	30.17	35.33	38.83
1	5	T	6.4	10.83	14	19	20.33	23.67	24.67
2	1	T	4.5	14.17	21.5	29.17	34.67	43	47.83
2	2	C1D1	5.33	15.58	20.42	27	33	42.33	49
2	3	C2D1	5.5	12.25	19.17	25.33	29	32.83	33.67
2	4	C2D2	6.08	13.67	19.92	25.08	28.33	31.5	33.67
2	5	C1D2	5.25	13.67	21	26.92	31.17	37.17	40.17
3	1	C1D1	6.25	14.5	20.67	27.08	31.83	40	44.83
3	2	C2D1	6.17	14.33	24.83	33.25	39.67	48.83	58.17
3	3	C1D2	7	13.5	17.5	21.75	23.5	25.67	28.33
3	4	C2D2	6.25	13.08	20.33	26.67	28.17	30.33	34.5
3	5	T	3.5	12.5	19.83	26.42	31.33	34	39.33

**Número de hojas.**

REPETICIONES	TRATAMIENTO	CODIGO	# HOJAS Día 14 (unidad)	# HOJAS Día 23 (unidad)	# HOJAS Día 34 (unidad)	# HOJAS Día 42 (unidad)	# HOJAS Día 51 (unidad)	# HOJAS Día 65 (unidad)	# HOJAS Día 76 (unidad)
1	1	C2D2	1.33	3.83	7.17	8.83	11.33	11	14.5
1	2	C1D2	1.83	3.83	6.67	7.5	10.83	12.5	11.67
1	3	C2D1	1.5	4.5	6.5	8.33	12.33	12	13.33
1	4	C1D1	1.33	4.5	7.33	8.5	11.83	11.5	13
1	5	T	1.33	3.17	5.33	6.33	8.5	8	8.17
2	1	T	1.33	4.17	7.17	8.67	11.5	12.17	12.83
2	2	C1D1	1.17	4.33	7.17	8.67	11.5	12.67	14.33
2	3	C2D1	1.67	4.17	6.33	7.67	10	9.17	11.17
2	4	C2D2	1.67	3.83	6.33	7.5	10.17	8.83	8.83
2	5	C1D2	1.5	4.17	6.67	8	10.33	9.67	9.83
3	1	C1D1	1.67	4.33	6.5	7.67	12.67	13.17	15.5
3	2	C2D1	1.33	5	8	10.17	15	17.67	17.83
3	3	C1D2	1.67	3.83	5.83	6.83	8.33	7.83	7
3	4	C2D2	1.33	4.33	6.83	7.67	10.17	10	11.33
3	5	T	0	3.83	6.5	8	10.33	9.17	9.67

**Diámetro de tallo.**

REPETICIONES	TRATAMIENTO	CODIGO	DIAM. Tallo Día 14 (mm)	DIAM. Tallo Día 23 (mm)	DIAM. Tallo Día 34 (mm)	DIAM. Tallo Día 42 (mm)	DIAM. Tallo Día 51 (mm)	DIAM. Tallo Día 65 (mm)	DIAM. Tallo Día 76 (mm)
1	1	C2D2	0.37	3.58	4.13	3.84	4.5	4.65	4.95
1	2	C1D2	0.4	3.68	4.01	4.13	4.56	4.67	5.07
1	3	C2D1	0.4	3.86	4.16	4.46	4.75	4.81	4.8
1	4	C1D1	0.35	3.79	4.29	4.12	4.66	4.88	5.04
1	5	T	0.35	3.43	3.55	3.56	3.75	3.7	3.94
2	1	T	0.32	3.83	4.17	4.05	4.43	4.97	5.14
2	2	C1D1	0.38	3.8	4.28	4.37	4.91	5.23	5.61
2	3	C2D1	0.33	3.74	4.01	4.17	4.2	4.6	4.58
2	4	C2D2	0.37	3.78	3.99	3.99	4.08	4.12	4.23
2	5	C1D2	0.33	4.03	4.19	4.35	4.38	4.83	4.92
3	1	C1D1	0.4	3.67	4.07	4.39	4.88	5.14	5.03
3	2	C2D1	0.4	3.77	4.39	4.65	4.97	5.7	6.08
3	3	C1D2	0.38	3.54	3.67	3.84	4.07	4.11	4.04
3	4	C2D2	0.4	3.6	4.23	4.43	4.16	4.39	4.6
3	5	T	0.27	3.56	3.86	4.13	4.09	4.26	4.14

**Número de nódulos.**


REPETICIONES	TRATAMIENTO	CODIGO	# NÓDULOS Día 83 (unidad)
1	1	C2D2	0.17
1	2	C1D2	0.5
1	3	C2D1	1.83
1	4	C1D1	0.17
1	5	T	0.17
2	1	T	0.33
2	2	C1D1	0.17
2	3	C2D1	0.17
2	4	C2D2	0
2	5	C1D2	0.5
3	1	C1D1	0.83
3	2	C2D1	4.33
3	3	C1D2	1
3	4	C2D2	1.17
3	5	T	2.17

## Anexo 4. Hoja de vida del estudiante.

## FICHA SIITH

**DATOS PERSONALES:**

TIP O	CI/PAS	NACIONALIDA D	APELLID O	APELLID O M	NOMBR E	FNAC	EST CIVIL	SEX O	GENERO
C	050356511 1	ECU	CHANGO	TACO	ALEX ROBERT O	30/11/199 1	SOLTERO/ A	M	HETEROSEXU AL



SANGRE	DISCAPACIDAD	%	CONADIS	ETNIA	NACION INDIGENA
O+	NINGUNA	0	No aplica	MESTIZO	NO APLICA

LUGAR NAC	RESIDENCIA	CONVENC	CELULAR	DIRECCION
ECU_050550	ECU_050550	032728328	0995661849	PASO LATERAL KM E35 SEMFORO DE QUILAJALO

MAIL PERSONAL	MAIL INST
ALECS.RCH6@GMAIL.COM	ALEX.CHANGO5111@UTC.EDU.EC

**DATOS ACADÉMICOS:**

TITULO	NOMBRE	AREA	SUBAREA	PAIS	SENESCYT
--------	--------	------	---------	------	----------

**Anexo 5. Hoja de vida del tutor.****DATOS PERSONALES****APELLIDOS:** PARRA GALLARDO**NOMBRES:** GIOVANA PAULINA**ESTADO CIVIL:** DIVORCIADA**CEDULA DE CIUDADANIA:** 180226703-7**LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO:** 28 – 07 -1969**DIRECCION DOMICILIARIA:** AMBATO: Pasaje Toro S.N. y Jorge Carrera**TELEFONO CONVENCIONAL:** 032588381**TELEFONO CELULAR:** 09878394949, 0998435238**CORREO ELECTRONICO:** giovana.parra@utc.edu.ec; gioppg@gmail.com;**EN CASO DE EMERGENCIA CONTACTARSE CON:** PABLO FRANCISCO LÓPEZ PARRA - 0995638722**ESTUDIOS REALIZADOS Y TITULOS OBTENIDOS**

<b>NIVEL</b>	<b>TITULO OBTENIDO</b>	<b>FECHA DE REGISTRO EN EL CONESUP</b>	<b>CODIGO DEL REGISTRO CONESUP</b>
<b>TERCER</b>	INGENIERA AGRÓNOMA	19/05/2003	1010-03-392713
<b>CUARTO</b>	MAGISTER EN GESTIÓN DE EMPRESAS AGROPECUARIAS Y MANEJO DE POSCOSECHA	03/12/2008	1010-08-684405
	DIPLOMADO EN TECNOLOGÍAS PARA LA GESTIÓN Y PRÁCTICA DOCENTE	06/10/201	010-08-684405
	MAESTRÍA EN TECNOLOGÍAS PARA LA GESTIÓN Y PRÁCTICA DOCENTE (EGRESADA)		
	DOCTORADO EN AGRICULTURA PROTEGIDA (CANDIDATA)		

**HISTORIAL PROFESIONAL****UNIDAD ACADEMICA EN LA QUE LABORA:** C.A.R.E.N.**CARRERA A LA QUE PERTENECE:** INGENIERÍA AGRONÓMICA**AREA DEL CONOCIMIENTO EN LA CUAL SE DESEMPEÑA:** EJE PROFESIONAL**PERIODO ACADEMICO DE INGRESO A LA UTC:** ABRIL 1998

-----  
**FIRMA**

## Anexo 6. Análisis de suelo Inicial.

## INFORME DE RESULTADOS



## DATOS DEL CLIENTE

**Cliente:** Chango Alex  
**Dirección:** Cotopaxi **Teléfono:** 978780843  
**Provincia:** Cotopaxi **Canton:** cod. Lab 5, 92022

## INFORMACION DE LA MUESTRA

**Tipo de Muestra:** suelo **Fecha de ensayo:** del 11 de enero al 11 de febrero  
**Fecha de toma de muestra:** 11/01/2022 **Dirección de la muestra:** cotopaxi  
**Fecha de recepción en:** 11/01/2022 **Cod. Lab:** 5,62022  
**Observaciones:** Muestra tomada por el cliente

## RESULTADOS

Id. Cliente	Parametros		Resultado	Unidad	Nivel	Técnica analítica
X2	K	Ac.Am	1,10	meq/100g	alto	A.atómica
	Ca	Ac.Am	14,6	meq/100g	alto	A.atómica
	Mg	Ac.Am	2,8	meq/100g	alto	A.atómica
	Cu	Olsen mod.	2,0	ppm	medio	A.atómica
	Mn	Olsen mod.	3,0	ppm	bajo	A.atómica
	Zn	Olsen mod.	1,0	ppm	bajo	A.atómica
	PH	H2O 1:2,5	7,75		Ligeram.Alcalino	Conductimétrico
	M.O.	W-B	2,5	%	bajo	gravimétrico
	CE	H2O 1:2,5	0,808	mmhos/cm	No Salino	Conductimétrico
	NTotal	calculo a partir de	0,13	%	bajo	Volumétrica
	P	Olsen mod.	122,3	ppm	alto	Colorimétrico
	B	Fos-Ca		ppm		Colorimétrico
	Cl	H2O 1:1		ppm		
	S	Fos-Ca		ppm		Turbidimétrico
	N-NH4	Olsen/azul indofenol		ppm		Colorimétrico
	CIC	Ac.Am		meq/100g		volumétrico
	Ca/Mg	calculo	5,2	meq/100g	alto	N/A
	Mg/K	calculo	2,5	meq/100g	Optimo	N/A
	(Ca+Mg)/K	calculo	15,8	meq/100g	Optimo	N/A
	Sat. De bases	Cálculo				
Acidez Int.	KCl				Volumétrica	



Ing. Carlos Mayorga  
**TOTALCHEM**

TotalChem Se responsabiliza unicamente de los análisis mas no de la toma de muestra

Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basados en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este informe en forma exclusiva y confidencial

## Anexo 7. Análisis de suelo final de cada dosis.

## INFORME DE RESULTADOS



## DATOS DEL CLIENTE

**Cliente:** Chango Alex  
**Dirección:** Cotopaxi **Teléfono:** 978780843  
**Provincia:** Cotopaxi **Canton:**

## INFORMACION DE LA MUESTRA

**Tipo de Muestra:** suelo **Fecha de ensayo:** del 11 de enero al 11 de febrero  
**Fecha de toma de muestra:** 11/01/2022 **Dirección de la muestra:** cotopaxi  
**Fecha de recepción en:** 11/01/2022 **Cod. Lab:** 5.12022  
**Observaciones:** Muestra tomada por el cliente

## RESULTADOS

Id. Cliente	Parametros		Resultado	Unidad	Nivel	Técnica analítica
CID1	K	Ac.Am	0,80	meq/100g	alto	A.atômica
	Ca	Ac.Am	15,5	meq/100g	alto	A.atômica
	Mg	Ac.Am	8,5	meq/100g	alto	A.atômica
	Cu	Olsen mod.	2,0	ppm	medio	A.atômica
	Mn	Olsen mod.	4,0	ppm	bajo	A.atômica
	Zn	Olsen mod.	2,0	ppm	bajo	A.atômica
	PH	H2O 1:2,5	7,38		Practicamente	Conductimétrico
	M.O.	W-B	2,5	%	bajo	gravimétrico
	CE	H2O 1:2,5	1,09	mmhos/cm	No Salino	Conductimétrico
	NTotal	calcula a partir de	0,13	%	bajo	Volumétrica
	P	Olsen mod.	88,2	ppm	alto	Colorimétrico
	B	Fos-Ca		ppm		Colorimétrico
	Cl	H2O 1:1		ppm		
	S	Fos-Ca		ppm		Turbidimétrico
	N-NH4	Olsen/azul indofenol		ppm		Colorimétrico
	CIC	Ac.Am		meq/100g		volumétrico
	Ca/Mg	calcula	1,8	meq/100g	bajo	N/A
	Mg/K	calcula	10,6	meq/100g	Optimo	N/A
(Ca+Mg)/K	calcula	29,9	meq/100g	Optimo	N/A	
Sat. De bases	Cálculo					
Acidez Int.	KCl				Volumétrica	



Ing. Carlos Mayorga  
**TOTALCHEM**

TotalChem Se responsabiliza unicamente de los análisis mas no de la toma de muestra

Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basado en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este informe en forma exclusiva y confidencial

agua, abonos químicos foliares, alimentos, balanceados, suelos,  
 Microbiología, Aguas, Suelos, Alimentos  
 Movilización para toma de muestras

## INFORME DE RESULTADOS



<b>DATOS DEL CLIENTE</b>
--------------------------

**Cliente:** Chango Alex  
**Dirección:** Cotopaxi    **Teléfono:** 978780843  
**Provincia:** Cotopaxi    **Canton:** cod. Lab 5, 22022

<b>INFORMACION DE LA MUESTRA</b>
----------------------------------

**Tipo de Muestra:** suelo    **Fecha de ensayo:** del 11 de enero al 11 de febrero  
**Fecha de toma de muestra:** 11/01/2022    **Dirección de la muestra:** cotopaxi  
**Fecha de recepción en** 11/01/2022    **Cod. Lab** 5, 22022  
**Observaciones:** Muestra tomada por el cliente

RESULTADOS						
Id.Cliente	Parametros		Resultado	Unidad	Nivel	Técnica analítica
CID2	K	Ac.Am	1,10	meq/100g	alto	A.atómica
	Ca	Ac.Am	13,8	meq/100g	alto	A.atómica
	Mg	Ac.Am	7,6	meq/100g	alto	A.atómica
	Cu	Olsen mod.	5,0	ppm	alto	A.atómica
	Mn	Olsen mod.	4,0	ppm	bajo	A.atómica
	Zn	Olsen mod.	1,0	ppm	bajo	A.atómica
	PH	H2O 1:2,5	7,51		Ligeram. Alcalino	Conductimétrico
	M.O.	W-B	2,9	%	bajo	gravimétrico
	CE	H2O 1:2,5	1,00	mmhos/cm	No Salino	Conductimétrico
	NTotal	calculo a partir de mat. organica	0,15	%	bajo	Volumétrica
	P	Olsen mod.	115,6	ppm	alto	Colorimétrico
	B	Fos-Ca		ppm		Colorimétrico
	Cl	H2O 1:1		ppm		
	S	Fos-Ca		ppm		Turbidimétrico
	N-NH4	Olsen/azul indofenol		ppm		Colorimétrico
	CIC	Ac.Am		meq/100g		volumetrico
	Ca/Mg	calculo	1,8	meq/100g	bajo	N/A
	Mg/K	calculo	6,9	meq/100g	Optimo	N/A
	(Ca+Mg)/K	calculo	19,5	meq/100g	Optimo	N/A
	Sat. De bases	Cálculo				
Acidez Int.	KCl				Volumétrica	



Ing. Carlos Mayorga  
**TOTALCHEM**

TotalChem Se responsabiliza unicamente de los análisis mas no de la toma de muestra

Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basados en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este informe en forma exclusiva y confidencial

agua, abonos químicos, foliares, alimentos, balanceados, suelos,  
 Microbiología, Aguas, suelos, elementales  
 Movilización para toma de muestras

## INFORME DE RESULTADOS



## DATOS DEL CLIENTE

**Cliente:** Chango Alex  
**Dirección:** Cotopaxi **Teléfono:** 978780843  
**Provincia:** Cotopaxi **Canton:** cod. Lab 5, 92022

## INFORMACION DE LA MUESTRA

**Tipo de Muestra:** suelo **Fecha de ensayo:** del 11 de enero al 11 de febrero  
**Fecha de toma de muestra:** 11/01/2022 **Dirección de la muestra:** cotopaxi  
**Fecha de recepción en:** 11/01/2022 **Cod. Lab:** 5, 32022  
**Observaciones:** Muestra tomada por el cliente

## RESULTADOS

Id. Cliente	Parametros		Resultado	Unidad	Nivel	Técnica analítica
C2D1	K	Ac. Am	1,30	meq/100g	alto	A.atòmica
	Ca	Ac. Am	17,0	meq/100g	alto	A.atòmica
	Mg	Ac. Am	2,8	meq/100g	alto	A.atòmica
	Cu	Olsen mod.	5,0	ppm	alto	A.atòmica
	Mn	Olsen mod.	4,1	ppm	bajo	A.atòmica
	Zn	Olsen mod.	2,0	ppm	bajo	A.atòmica
	PH	H2O 1:2,5	7,64		Ligeram. Alcalino	Conductimétrico
	M.O.	W-B	3,3	%	medio	gravimétrico
	CE	H2O 1:2,5	0,93	mmhos/cm	No Salino	Conductimétrico
	NTotal	calculo a partir de	0,17	%	bajo	Volumétrica
	P	Olsen mod.	124,4	ppm	alto	Colorimétrico
	B	Fos-Ca		ppm		Colorimétrico
	Cl	H2O 1:1		ppm		
	S	Fos-Ca		ppm		Turbidimétrico
	N-NH4	Olsen/azul indofenol		ppm		Colorimétrico
	CIC	Ac. Am		meq/100g		volumétrico
	Ca/Mg	calculo	6,1	meq/100g	alto	N/A
	Mg/K	calculo	2,2	meq/100g	bajo	N/A
	(Ca+Mg)/K	calculo	15,2	meq/100g	Optimo	N/A
	Saf. De bases	Cálculo				
Acidez Int.	KCl				Volumétrica	



Ing. Carlos Mayorga  
TOTALCHEM

TotalChem Se responsabiliza unicamente de los análisis mas no de la toma de muestra

Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basados en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este informe en forma exclusiva y confidencial

agua, abonos químicos, fertilizantes, alimentos, balanceados, suelos,  
Microbiología: Aguas, suelos, alimentos  
Movilización para toma de muestras

## INFORME DE RESULTADOS



## DATOS DEL CLIENTE

**Cliente:** Chango Alex  
**Dirección:** Cotopaxi **Teléfono:** 978780843  
**Provincia:** Cotopaxi **Canton:** cod. Lab 5, 92022

## INFORMACION DE LA MUESTRA

**Tipo de Muestra:** suelo **Fecha de ensayo:** del 11 de enero al 11 de febrero  
**Fecha de toma de muestra:** 11/01/2022 **Dirección de la muestra:** cotopaxi  
**Fecha de recepción en** 11/01/2022 **Cod. Lab** 5,42022  
**Observaciones:** Muestra tomada por el cliente

## RESULTADOS

Id. Cliente	Parametros		Resultado	Unidad	Nivel	Técnica analítica
C2D2	K	Ac.Am	0,98	meq/100g	alto	A.atómica
	Ca	Ac.Am	14,3	meq/100g	alto	A.atómica
	Mg	Ac.Am	4,3	meq/100g	alto	A.atómica
	Cu	Olsen mod.	3,0	ppm	medio	A.atómica
	Mn	Olsen mod.	2,0	ppm	bajo	A.atómica
	Zn	Olsen mod.	1,0	ppm	bajo	A.atómica
	PH	H2O 1:2,5	7,53		Ligeram. Alcalino	Conductimétrico
	M.O.	W-B	3,3	%	medio	gravimétrico
	CE	H2O 1:2,5	1,20	mmhos/cm	No Salino	Conductimétrico
	NTotal	calculo a partir de	0,17	%	bajo	Volumétrica
	P	Olsen mod.	115,0	ppm	alto	Colorimétrico
	B	Fos-Ca		ppm		Colorimétrico
	Cl	H2O 1:1		ppm		
	S	Fos-Ca		ppm		Turbidimétrico
	N-NH4	Olsen/azul Indofenol		ppm		Colorimétrico
	CIC	Ac.Am		meq/100g		volumétrico
	Ca/Mg	calculo	3,3	meq/100g	Optimo	N/A
	Mg/K	calculo	4,4	meq/100g	Optimo	N/A
	(Ca+Mg)/K	calculo	19,0	meq/100g	Optimo	N/A
	Sat. De bases	Calculo				
Acidez Int.	KCl				Volumétrica	



Ing. Carlos Mayorga  
TOTALCHEM

TotalChem se responsabiliza unicamente de los análisis mas no de la toma de muestra

Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basado en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este informe en forma exclusiva y confidencial

agua, ebonite, químicos, fertilizantes, alimentos, balanceados, suelos,  
Microbiología: Aguas, suelos, alimentos  
Movilización para toma de muestras

## Anexo 8. Testigo (sin dosis de Rhizobium)

## INFORME DE RESULTADOS



<b>DATOS DEL CLIENTE</b>
--------------------------

**Cliente:** Chango Alex  
**Dirección:** Cotopaxi **Teléfono:** 978780843  
**Provincia:** Cotopaxi **Canton:** cad. Lab 5, 92022

<b>INFORMACION DE LA MUESTRA</b>
----------------------------------

**Tipo de Muestra:** suelo **Fecha de ensayo:** del 11 de enero al 11 de febrero  
**Fecha de toma de muestra:** 11/01/2022 **Dirección de la muestra:** cotopaxi  
**Fecha de recepción en Observaciones:** 11/01/2022 **Cod. Lab** 5,52022  
 Muestra tomada por el cliente

Id. Cliente	Parametros		RESULTADOS			
			Resultado	Unidad	Nivel	Técnica analítica
T	K	Ac. Am	0,65	meq/100g	alto	A.atómica
	Ca	Ac. Am	17,4	meq/100g	alto	A.atómica
	Mg	Ac. Am	2,0	meq/100g	alto	A.atómica
	Cu	Olsen mod.	1,1	ppm	medio	A.atómica
	Mn	Olsen mod.	2,0	ppm	bajo	A.atómica
	Zn	Olsen mod.	1,0	ppm	bajo	A.atómica
	PH	H2O 1:2,5	7,47		Ligeram. Alcalino	Conductimétrico
	M.O.	W-B	3,6	%	medio	gravimétrico
	CE	H2O 1:2,5	1,202	mmhos/cm	No Salino	Conductimétrico
	NTotal	calculo a partir de	0,18	%	bajo	Volumétrica
	P	Olsen mod.	128,2	ppm	alto	Colorimétrico
	B	Fos-Ca		ppm		Colorimétrico
	Cl	H2O 1:1		ppm		
	S	Fos-Ca		ppm		Turbidimétrico
	N-NH4	Olsen/azul indofenol		ppm		Colorimétrico
	CIC	Ac. Am		meq/100g		volumétrico
	Ca/Mg	calculo	8,7	meq/100g	Optimo	N/A
	Mg/K	calculo	3,1	meq/100g	Optimo	N/A
	(Ca+Mg)/K	calculo	29,8	meq/100g	Optimo	N/A
	Sat. De bases	Cálculo				
Acidez Int.	KCl				Volumétrica	



Ing. Carlos Mayorga  
TOTALCHEM

TotalChem Se responsabiliza unicamente de los análisis mas no de la toma de muestra

Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basado en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este informe en forma exclusiva y confidencial

agua, abonos químicos, foliares, alimentos, balanceados, suelos,  
Microbiología: Aguas, suelos, alimentos  
Movilización para toma de muestras

## 20. FOTOGRAFÍAS.

Fotografía 1. Preparación del área de estudio.



**Fotografía 2. Colocación del sistema de riego.**



**Fotografía 3. Desinfección y colocación del abono (turba) en las fundas.**





**Fotografía 4. Inoculación de la semilla de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) dosis (1cc y 2cc) *Rhizobium* spp (Tungurahua y Cotopaxi), var. INIAP-451**



**Fotografía 5. Siembra del Lupinus inoculado con las dos dosis.**



**Fotografía 6. Control de temperatura y HR en el cultivo de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) var. INIAP-451**



**Fotografía 7. Regadío cada 7 a 8 días al cultivo de chocho.**



**Fotografía 8. Desarrollo del cultivo de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) var. INIAP-451**



**Fotografía 9. Extracción de raíces para el conteo de nódulos formados en el cultivo de chocho.**





## **21. MANUAL DE LA MULTIPLICACIÓN DEL RHIZOBIUM SPP.**



**UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS**  
**NATURALES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

---

**MANUAL DE MULTIPLICACIÓN Y DILUCIONES SERIADAS**  
**(UFC) DE LA BACTERIA RHIZOBIUM SPP.**

---

**Autores:**

Chango Alex

Changoluisa Paola

**Colaboradores científicos:**

Ing. Mg. Parra Giovana

Ing. Llanos Tannya

**Latacunga - Ecuador**

**MARZO 2022**



## INDICE GENERAL

INTRODUCCION .....	1
Origen de los genes (Rhizobium spp) .....	1
Que es la bacteria Rhizobium .....	2
Caracterización de cepas de Rhizobium .....	2
Tipos de bacterias de Rhizobium y funciones.....	3
METODOLOGÍA .....	4
Diferencia de los Caldos Nutritivos (Agar) para observar resultados .....	5
PROCESOS DE MULTIPLICACION DE LA BACTERIA RHIZOBIUM SPP .....	6
MATERIALES .....	6
PROCEDIMIENTO .....	7
Adquisicion de la solucion liquida de Rhizobium spp y sus características.....	7
Preparacion del Medio de Cultivo para las cepas de apertura.....	8
Obtención de las dos primeras cepas de Rhizobium spp .....	9
Multiplicación de Rhizobum spp (C y T) .....	10
CRECIMIENTO DE LA BACTERIA RHIZOBIUM SPP EN PCA NUTRITIVO .....	12
PREPARACIÓN DE DILUCIONES SERIADAS PARA LAS UFC.....	13
Calculo de las colonias UFC .....	16



## 1. INTRODUCCIÓN.

Conocida como simbiosis fijación biológica del nitrógeno (FBN) (rizobio-leguminosa) es un proceso de vital importancia en la biosfera, donde actúan microorganismos portadores de la enzima llamada nitrogenasa, su función principal es convertir el nitrógeno gaseoso en nitrógeno combinado, siendo así más asimilable para las plantas. Cabe recalcar algo importante para que la bacteria fijadora de nitrógeno tenga efectividad de realizar la FBN necesita de una planta hospedante.

### 1.1. Origen de los genes (*Rhizobium spp*)

En el género rizobios de los FBN se obtuvo en el año 1888, donde el Botánico y fitopatólogo holandés Beijerinck, considerado uno de los pioneros de la microbiología donde su prioridad era realizar estudios sobre la naturaleza de los virus, consiguió obtener el primer cultivo bacteriano de nódulos puros de la raíz de una planta leguminosa donde lo llamo *Bacillus radicumicola*, donde al momento de aislarlos Frank observó que tenía bacterias aisladas 100% puros de FBN lo nombró *Rhizobium*. Basándose en la especificidad y características de los huéspedes para 1929 ya se consiguió reconocer seis tipos de bacterias de FBN (*Rhizobium leguminosarum*, *trifolii*, *phaseoli*, *meliloti*, *japonicum* y *lupini*). Basándose a cada característica que las hacía diferentes en esta clasificación, cada especie de *Rhizobium* encontrada se componía de cepas donde compartían un grupo de leguminosas huéspedes específicas para la nodulación. (Wang *et al.*, 2002)



## **1.2. Que es la bacteria Rhizobium.**

Estas bacterias son del género *Rhizobium* con capacidad de inducir en las raíces de leguminosas, donde su principal función es la estructuración especializada de nódulos, donde una explicación química para mejor entendimiento se refiere a que el  $N_2$  atmosférico ya que es muy estable e inerte esta se reduce a iones amonio ( $NH_4^+$ ), cuando realiza este proceso el  $N_2$  es más asimilable para la mayoría de las especies vegetales y es donde actúa la bacteria del *Rhizobium* generando la fijación del nitrógeno atmosférico en la planta, realizando un proceso de alta eficiencia de FBN y puede ser capaz de abastecer hasta un 90% de las necesidades de nitrógeno en las plantas. (*López et al., 2017*)

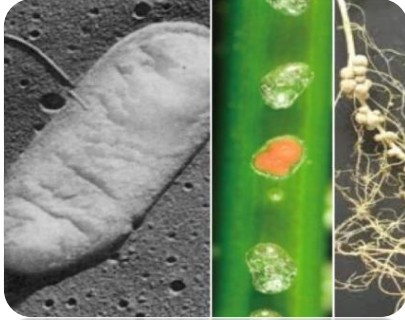
## **1.3. Caracterización de cepas de Rhizobium.**

Explorar nuevas alternativas de nodular a las plantas para el desarrollo de las leguminosas y es posible de otras especies, es aprovechar el uso potencial de las bacterias *Rhizobium* para inducir la nodulación y fijar el nitrógeno, un estudio realizado en Bolívar del país Colombia, nos menciona que al momento de aislar al bacteria *Rhizobium* en cepas de agar estas demostraron que son capaces de crecer de mejor manera en ambientes hostiles, teniendo la capacidad potencial de ser utilizados como bioinoculantes para la fijación del nitrógeno (FBN), se caracterizaron un número de 52 cepas de rizobios, dando como resultado un crecimiento de acuerdo al ambiente que se encuentren, un crecimiento lento tiene un porcentaje del 63,5%, mientras que lo más rápido es del 36,5% con los materiales de laboratorio correctos para el crecimiento de la bacteria. (*Cuadrado et al., 2009*)



#### 1.4. Tipos de bacterias de Rhizobium y funciones.

##### Género Azorhizobium



**Función principal:** Contiene cepas que forman nódulos de raíz y de tallo y fijan nitrógeno en condiciones de vida libre.

##### Cepas de Bradyrhizobium



**Función principal:** Crecen lentamente en colonias de menos de 1 mm de diámetro después de 7 días de incubación y estas producen álcali en medio YMA.



### Género Mesorhizobium



**Función principal:** Estas incluye cepas con colonias de crecimiento lento o moderado resultando con colonias de 1-2 mm después de 5 a 7 días de incubación y estas produce ácido en medio YMA.

### Géneros restantes, Allorhizobium, Rhizobium y Sinorhizobium



**Función principal:** Estas crecen rápido en colonias mayores de 2 mm después de 5 a 7 días de incubación y también producen ácido en medio YMA. (Wang *et al.*, 2002)

**NOTA: Medio YMA.** Es un medio complejo que permite el desarrollo de los rizobios durmientes, es diferencial, ya que permite distinguir a los contaminantes que se han infiltrado, estas se teñirán de color rojo, mientras que las colonias de rizobios se verán blancuzcas y cremosas.

## 2. METODOLOGÍA.

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de la Universidad Técnica de Cotopaxi, Área laboratorio de Agronomía; pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales Campus Salache, donde se realizó las siguientes



actividades: adquisición de la bacteria Rhizobium especies (Cotopaxi y Tungurahua) que fueron utilizadas como cepas madres para realizar la multiplicación de más Rhizobium en cajas Petri en nutrient AGAR para la reproducción y para el crecimiento en caldo nutritivo PCA , para después realizar las diluciones seriadas (UFC) y determinar la cuantificación de microorganismos y contabilizar las bacterias viables en las muestras procesadas, determinando las dosis para la inoculación, en volumen (dosis) y aplicarlas en las plantas de Lupinus en campo.

Para esta investigación se utilizo como base, la metodología experimental adoptada de Medios de aislamiento, enriquecimiento y Cultivo por (WEAVER & GRAHAM, 1994); la cual será adaptada según las condiciones que requería las cepas de los investigadores Alex Chango y Paola Changoluisa, multiplicando cepas para cada especie de Rhizobium (*Cotopaxi* y *Tungurahua*) a partir de las cepas madres o de apertura

### 2.1.Diferencia de los Caldos Nutritivos (Agar) para observar resultados.

- **Agar nutritivo para la multiplicación – resultados de 4 a 5 días.**



Especificaciones		
Marca	Medios de cultivo NEOGEN®	
analito	E. coli, Salmonella spp.	
Plataforma	Medios de cultivo deshidratados	
Masa	500g	
Fórmula	<b>Fórmula</b>	<b>Litro</b>
	peptona	5,0g/L
	Extracto de carne	3,0g/L
	Cloruro de sodio	8,0 g/l
	agar	12,0 g/l

Fuente: (NEOGEN, 2020)

Se usa para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos y no está diseñado para usarse en el diagnóstico de enfermedades u otras condiciones en humanos. Un medio de uso general para el cultivo de organismos que no son exigentes en sus requisitos nutricionales, por ejemplo, organismos que se pueden aislar del aire, el agua, el polvo, etc.

- **Agar nutritivo PCA para crecimiento – resultados a partir de 48horas**



### Composición de Plate Count Agar (PCA)

Ingredientes	gramos/litro
Digerido enzimático de caseína/triptona	5.0
Extracto de levadura	2.5
Glucosa	1.0
agar	15.0

pH final  $7,0 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$

Fuente: (NEOGEN, 2020)

El agar de recuento en placa (PCA) es un sustrato bacteriológico que se utiliza para determinar el número total de bacterias aeróbicas vivas en una muestra.

### 3. PROCESOS DE MULTIPLICACIÓN DE LA BACTERIA RHIZOBIUM SPP.

Es importante saber que, si se va a realizar este procedimiento del multiplicar a la bacteria *Rhizobium spp*, debemos contar con materiales apropiados para la manipulación de la bacteria, centros de laboratorio de microbiología donde no exista contaminación de patógenos.

### 4. MATERIALES.

#### Materiales de laboratorio.

- Frascos de vidrio (resistentes al calor).
- Agujas o asas de inoculación (siembra).
- Mango para asa.
- Cajas Petri.
- Cinta Parafilm.
- Papel aluminio.
- Mandil.
- Guantes.
- Fosforo.
- Lampara de alcohol.
- Rociador con alcohol.
- Goteros
- Micropipetas.
- Matraz Erlenmeyer.
- Soporte para tubos de ensayo.

#### Equipos de laboratorio.

- Incubadora.
- Autoclave.
- Cámara de flujos.
- Contador de colonias digital.
- Balanza.
- Contador de UFC.



NOTA: es importante saber que todos los materiales, instrumentos y equipos que se van a utilizar en prácticas de microbiología deben estar previamente esterilizados.

## 5. PROCEDIMIENTO.

### 5.1. Adquisición de la solución líquida de *Rhizobium* spp y sus características.

Estas bacterias (*Rhizobium* spp) fueron adquiridas en estado líquido, provenientes de las provincias de Cotopaxi y Tungurahua para realizar cepas en caldos nutritivos y obtener cepas de apertura de las dos.

Características	Aislado A1 Tungurahua	Aislado A2 Cotopaxi
<b>Colonias</b>		
Diámetro (mm)	2 -2.5	1.8 -2.0
Color:	Translúcidas brillantes	Beige
Forma:	Redonda	Redonda
Borde:	Liso	Liso
Elevación:	Pulvinada	Pulvinada
Consistencia:	Mucilaginosa	Suave
<b>Bacterias</b>		
Forma:	Células bacilares alargadas	Células esferoidales
Largo:	2.0m-2.5 $\mu$	0.9m-1.0 m
Ancho:	1.0 $\mu$	0.9m-1.0 m
Determinación taxonómica:	Género: <i>Rhizobium</i>	Género: <i>Rhizobium</i>
<b>Observaciones adicionales:</b>	Células que presentan septos transversales teñidos positivamente con la tinción de Gram. Tiempo de incubación de 5 a 7 días.	Tiempo de incubación 6 días



Fuente: (Pérez, 2021)



- Preservar la bacteria en una nevera de laboratorio a 3°C a 4°C hasta el momento de realizar la cepa de apertura para la debida multiplicación de la bacteria.

## 5.2.Preparación del Medio de Cultivo para las cepas de apertura.

Preparar el medio cultivo en nutrient AGAR (nutritivo) en cajas Petri. *Los pasos a realizar son:*

- En una balanza pesamos el agar 23 gr de Agar Nutritivo.
- En un frasco de vidrio saturamos 1000 ml de agua destilada
- Mezclamos bien hasta contener una consistencia completamente diluida.
- Ingresamos a la autoclave por 30 min – 1 kPa a 121 °C.
- En la cámara de flujos dispensamos el medio de cultivo en cajas Petri hasta cubrir toda la superficie y dejamos enfriar hasta obtener el medio de cultivo en estado sólido o gel.



IMPORTANTE: No dejar enfriar el medio de cultivo por mucho tiempo ya que este producto al enfriarse se convertirá en una solución sólida y



### 5.3. Obtención de las dos primeras cepas de *Rhizobium* spp.

Con estas dos primeras cepas se iniciará la multiplicación de las bacterias. Los pasos a realizar son:

- Cajas Petri con medio de cultivo Agar nutritivo, en estado sólido.
- Retirar de la nevera a los frascos de *Rhizobium* (*Cotopaxi* y *Tungurahua*)
- Con una micro pipeta tomar 1cc de *Rhizobium*, colocar en el medio de cultivo y repartir con una aza de siembra.
- Sellamos las cajas Petri con cinta Parafilm y colocamos fecha y nombre.
- Colocamos en la incubadora a 25°C. Y observar los resultados después de 4 a 5 días
- resultado con éxito. Observar fotografía N° 01.



**Fotografía N° 01:** Primera cepa obtenida a través de una solución líquida de *Rhizobium*.

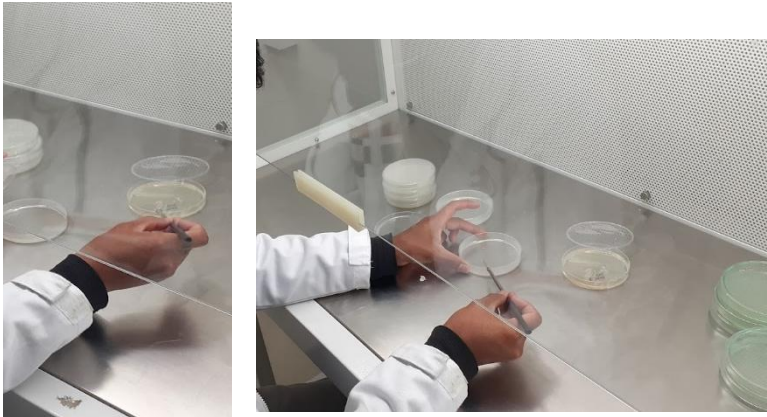


**Fuente:** Laboratorio de microbiología – UTC – Facultad Caren

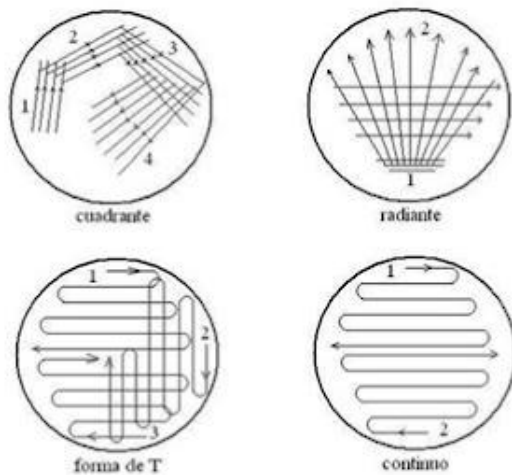
#### 5.4. Multiplicación del *Rhizobium* spp (C y T).

Los pasos a realizar son:

- Preparar 23 gramos de Agar nutritivo en 1000 ml de agua destilada para los medios de cultivo.
- Colocamos el medio de cultivo en la autoclave por 30 minutos, 1kPa y 121°C
- En la cámara de flujos dispensamos los medios de cultivo en cajas Petri para realizar la siembra.
- Con el asa de inoculación o siembra (*2 asas para cada bacteria*), y una lampara de alcohol encendida realizar la siembra con la **técnica de estrías – continuo**. *Observar la imagen 1.*



**Imagen 01:** Inoculación de medio de cultivos – técnicas.



**Fuente:** (Carrillo, 2008)

- Sellamos las cajas Petri con cinta Parafilm y colocamos en la incubadora de 25 a 30 °C.
- Resultados a los 4 días: (*ver fotografía N° 02*)



**Fotografía N° 02:** Resultados de la multiplicación del Rhizobium (Cotopaxi y Tungurahua).



**Fuente:** Laboratorio de IAGR – UTC – Facultad Caren.

**Fotografía N° 03:** Cepas de *Rhizobium* spp multiplicadas en la incubadora (C y T).



**Fuente:** Laboratorio de IAGR – UTC.

## 6. CRECIMIENTO DE LA BACTERIA RHIZOBIUM SPP EN PCA NUTRITIVO.

Para realizar este procedimiento se realizó los siguiente:

- Se tomó dos cepas multiplicadas de la incubadora de Cotopaxi y Tungurahua.
- En una balanza pesamos 23.5 gr de PCA (PLATE COUNT AGAR) para los medios de cultivo.
- Saturamos en un frasco de vidrio 1000 ml de agua destilada y mezclamos con el PCA.

- Colocamos en la autoclave por 30 min, 1Kpa a 121°C.
- En la cámara de flujos se plaqueo las cajas Petri y esperamos hasta obtener un caldo nutritivo sólido.
- Se realizó la siembra con la **técnica de estrías – continuo**, y sellamos con cinta Parafilm,
- Colocamos en la incubadora a 30 a 35 °C y esperamos **48 horas** para obtener resultados.
- Resultados. (ver fotografía N° 04)

**Fotografía N° 04:** Crecimiento del Rhizobium spp en 48 en Agar – PCA.



**Fuente:** Laboratorio de IAGR – UTC.

## 7. PREPARACIÓN DE DILUCIONES SERIADAS PARA LAS UFC.

En este procedimiento para realizar el conteo de las UFC del Rhizobium de las cepas (C y T), se realizó los siguientes pasos.

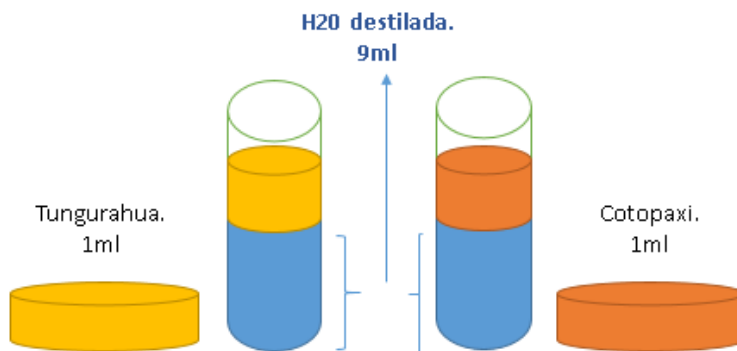
NOTA: Todo este procedimiento realizar en la cámara de flujos con la lampara de alcohol encendida para eliminar todo tipo de contaminación.

- Extraer una cepa de Tungurahua y Cotopaxi de la incubadora.
- En dos tubos de ensayo incorporar 9 ml de agua destilada estéril para cada cepa (T y C)



- Con una micro pipeta incorporar 1 ml de agua destilada esterilizada y la diluimos en la cepa de cada Rhizobium.
- Con una aza de siembra estéril se realizó la técnica de raspado (*raspar al Rhizobium del medio de cultivo en el agua destilada*).
- Una vez realizado el raspado incorporar la solución líquida de la caja Petri al tubo de ensayo que contiene 9 ml de agua destilada. Donde el resultado será la **OBTENCION DE LA DILUCION  $10^{-1}$** .

Dilución seriada para el Rhizobium.

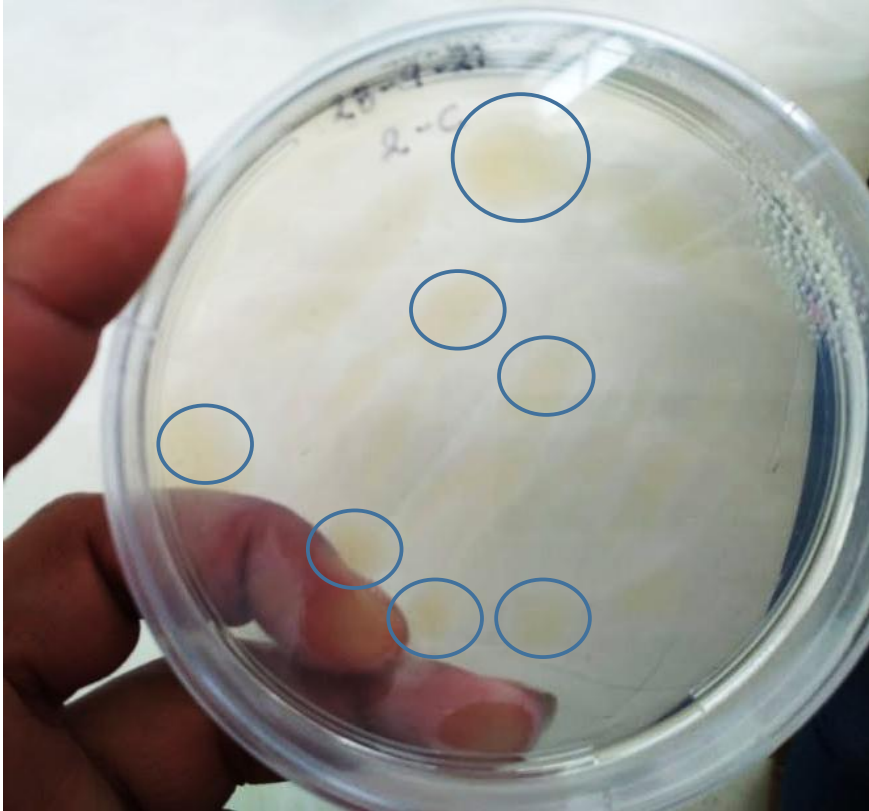


- Prepara 2 medios de cultivo en Agar PCA (una para cada bacteria).
- Con una micro pipeta sustraemos del tubo de ensayo 1 ml de Rhizobium e incorporamos en los medios de cultivo PCA. Para finalmente dispensar con una aza de Drigralsky en todas direcciones por la caja Petri durante 10 segundos.
- Sellamos con cinta Parafilm ponemos nombre y fecha, y guardamos en la incubadora a 30 a 35 °C y esperar de 2 a 3 días para los resultado.
- Resultados obtenidos





**Fotografía N° 05:** Colonias formadas de Rhizobium a dos días en la incubadora (UFC).



**Fuente:** Laboratorio de IAGR – UTC.

- Extraer al Rhizobium a los 3 días de la incubadora (sino se encuentra más de 25 colonias formadas se debe dejar reproducir más días en la incubadora) y con el equipo contador de colonias realizar el conteo de las UFC.

**Fotografía N° 06:** Conteo de las UFC para cada cepa de Rhizobium.



**Fuente:** Laboratorio de IAGR – UTC.

**Numero de colonias obtenidos en cada cepa:** se debe seleccionar si el número de UFC sobre pasa los 25 a 250 colonias formadas para realizar el conteo.

Tungurahua = Cepa N°1: 253 UFC

Cotopaxi = Cepa N°1: 436 UFC

### 7.1. Calculo de las colonias UFC



## 7.2.

El resultado se expresará en unidades formadoras de colonias (UFC) por ml. A la hora de obtener este resultado hay que tener en cuenta que se han sembrado 0.1 ml y el factor de dilución.

**Formula:**  $UFC = \# \text{ Colonias} \times 1 \text{ ml (soluto)} \times \text{Inverso de la dilución (diluyente)}$ .

Si se han contado más de dos placas sembradas de la dilución. Para expresar el resultado del recuento, primeramente, se hace la media de las placas contadas y luego aplicar la fórmula de la UFC.

### Resultados de conteo:

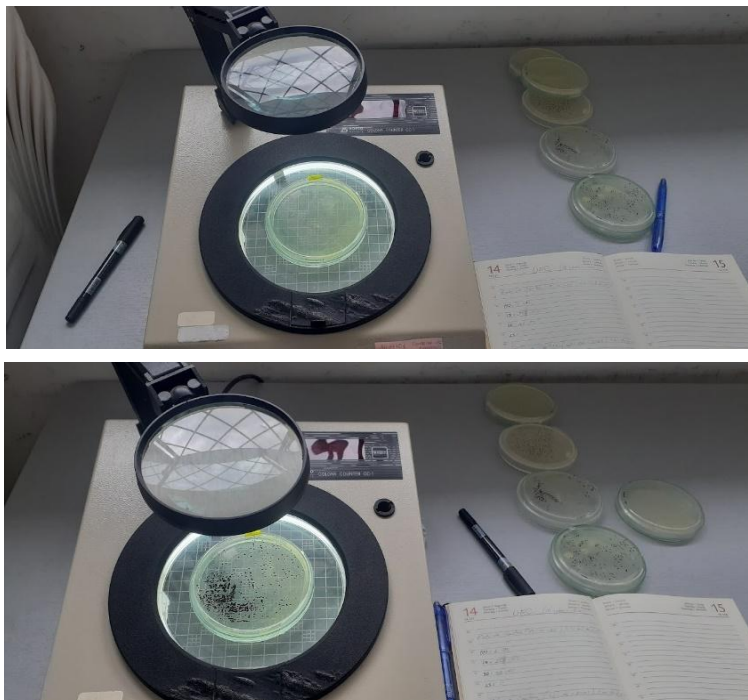
8. Tungurahua:

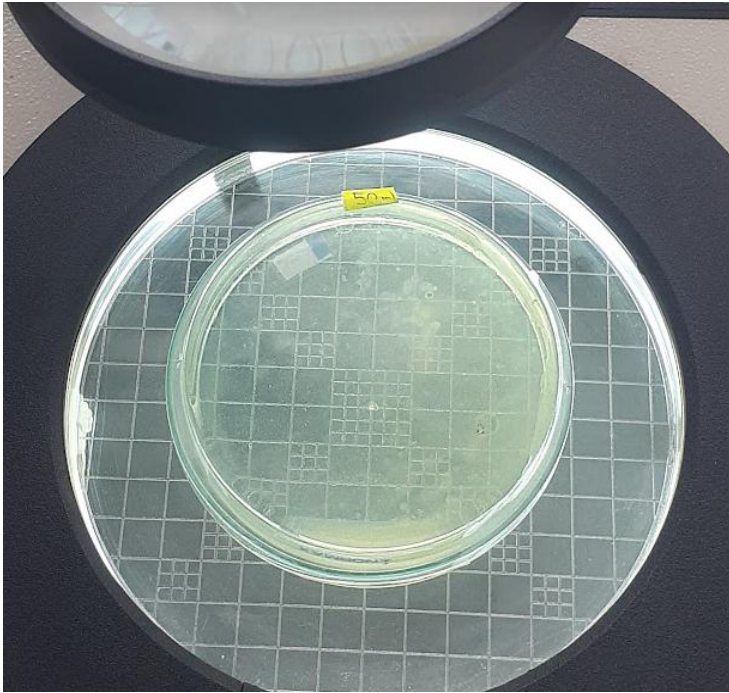
$$UFC = 253 \times 1\text{ml} \times 10^{-1} = 2.5 \times 10^{-1} \text{ UFC}$$

9. Cotopaxi:

$$UFC = 435 \times 1\text{ml} \times 10^{-1} = 4.4 \times 10^{-5} \text{ UFC}$$

**Fotografía N° 07:** Colonias formadas del *Rhizobium* spp y resultados del conteo UFC (C y T).





**Fuente:** Laboratorio de IAGR – UTC.