



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

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“IDENTIFICACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), var. LEONA BLANCA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm. COTOPAXI, 2021”

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

Autor:

Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Tutor:

Jiménez Jácome Cristian Santiago Ing. Mg.

LATACUNGA - ECUADOR

Agosto 2021

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Erik Vinicio Chiquimba Pinan, con Cédula de Identidad 1718512583, declaro ser autor del presente proyecto de investigación: “Identificación de consorcios bacterianos y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*), var. Leona Blanca en el piso altitudinal de 3800 msnm. Cotopaxi, 2021” siendo el Ingeniero Mg. Cristian Santiago Jiménez Jácome Tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

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

Latacunga, 20 de agosto del 2021

Erik Vinicio Chiquimba Pinan

Estudiante

CC: 1718512583

Ing. Mg. Cristian Santiago Jiménez Jácome

Docente Tutor

CC: 0501946263

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 **CHIQUMBA PINAN ERIK VINICIO**, identificado con cedula de ciudadanía **1718512583**, de estado civil **soltero** y con domicilio en la ciudad de Quito, Parroquia Yaruquí, Barrio San José a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE** y, de otra parte, el Ing 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 **“Identificación de consorcios bacterianos y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*), var. Leona Blanca en el piso altitudinal de 3800 msnm. Cotopaxi, 2021”** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Fecha de Inicio: Octubre 2016 – Marzo 2017

Fecha de Finalización: Abril 2021-Agosto 2021

Aprobación de Consejo Directivo: 20 de mayo del 2021

Tutor.- Ing. Mg. Cristian Santiago Jiménez Jácome

Tema: **“Identificación de consorcios bacterianos y grupos funcionales asociados a la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum*), var. Leona Blanca en el piso altitudinal de 3800 msnm. Cotopaxi, 2021”**

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

requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA.- Por el presente contrato, **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 las cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

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

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

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 20 días del mes de agosto del 2021.

Erik Vinicio Chiquimba Pinan
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:

“IDENTIFICACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), var. LEONA BLANCA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm. COTOPAXI, 2021”, de Chiquimba Pinan Erik Vinicio, 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, 20 de agosto del 2021

Ing. Mg. Cristian Santiago Jiménez Jácome

DOCENTE TUTOR

CC: 0501946263

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: Chiquimba Pinan Erik Vinicio, con el título de Proyecto de Investigación: **“IDENTIFICACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), var. LEONA BLANCA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm. COTOPAXI, 2021”** ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

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

Latacunga, 20 de agosto del 2021

Lector 1 (Presidente)
Ing. M.Sc. Paolo Chasi Vizuete
CC: 0502409725

Lector 2
Ing. Ph.D. Rafael Hernández Maqueda
CC: AAH836535

Lector 3
Ing. Mg. Francisco Hernán Chancusig
CC: 0501883920

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios no solo por darnos la vida, sino más bien porque fue mi inspiración y en el cual mantuve mi Fe, porque él es quien nos llena de fuerza para superar los obstáculos que se nos presenta.

A la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

A mis profesores que me enseñaron muchas cosas interesantes, por ser mejores guías que me impulsaron a desarrollar diferentes actividades gracias a su conocimiento e iniciativa de buenos líderes.

A mi tutor el Mg. Santiago Jiménez, un agradecimiento por haberme brindado su amistad y confianza durante el trayecto de esta investigación.

Al M.Sc. Paolo Chasi., en calidad de lector y coordinador del proyecto, por brindarme su conocimiento, y no solo eso sino también por estar pendiente a todo momento durante esta investigación, por su paciencia y ayuda recibida hacia mi persona y por estar que ha sido un pilar fundamental para la culminación de mi carrera Profesional.

Erik Vinicio Chiquimba Pinan

DEDICATORIA

Quiero agradecer a mi madre, por ser la que me ha apoyado en los momentos más difíciles de mi vida, por siempre estar ahí cuando más la necesite, gracias a ella porque me enseñó buenos valores y me dijo que cuando la vida nos deja caer hay que levantarnos para seguir adelante.

A mi padre, por tener mucha estimación, paciencia y la fuerza para apoyarme y seguir estudiando para que en un futuro distante llegar a convertirme en un profesional y estar ahí cuando me necesite para ayudarlo como él me ayudo durante toda mi vida en mis estudios.

A mi familia porque han estado pendientes de mí en todo momento y aconsejarme de las cosas que son buenas, necesarias y útiles durante todo este tiempo y quiero decirles que gracias a ellos me siento orgulloso porque no estoy solo, sino tengo a alguien que me dice el mejor camino que debo tomar y no cometer errores que pueden ser perjudiciales durante toda mi carrera y mi profesión.

Erik Vinicio Chiquimba Pinan

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITULO: “IDENTIFICACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), var. LEONA BLANCA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm. COTOPAXI, 2021”

AUTOR: Chiquimba Pina Erik Vinicio

RESUMEN

La presente investigación se realizó en la rizosfera de la papa, variedad súper chola en el piso altitudinal de 3800 msnm en la comunidad de Cuturiví Chico de la provincia de Cotopaxi, tuvo como objetivo identificar consorcios bacterianos y determinar los grupos funcionales asociados a la rizosfera del cultivo de la papa.

La identificación bacteriana se la realizó a través del método de secuenciación en nanoporos con dispositivo MinION, con amplificación de los genes 16s de la muestra y preparación de librerías de ADN, para secuenciar utilizando el kit de código de barras para posterior análisis de las lecturas resultantes en el flujo bioinformático online 16S en EPI2ME. Para el análisis de los diferentes grupos funcionales se tomó de referencia metodológica la metodología de Gustavo Bernal, misma que se utilizó para la determinación de bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias solubilizadoras de nitrógeno, hongos, actinomiceto, bacterias celulolíticas, pseudomonas. De los grupos funcionales antes mencionados se realizó cinco repeticiones en suelo y raíz más un testigo ciego donde obtuvimos el número de colonias gr^{-1} y las (Unidades formadoras de colonias) UFC gr^{-1} de cada uno. Adicional para conocer el estado de composición del suelo se realizó un análisis físico-químico que se envió al laboratorio del INIAP.

De los datos obtenidos en la investigación se puede decir que se identificó como las familias dominantes en la muestra de suelo la Enterobacteriaceae con 75,596 lecturas acumuladas, caracterizan por ser solubilizadoras de fósforo, seguido de Xanthomonadaceae con 7,042 lecturas acumuladas mismas que se caracteriza por poseer bacterias fijadoras de nitrógeno. El género más dominante es Raoultella con 4,468 lecturas acumuladas, seguido de Rhodanobacter con 3,146 lecturas acumuladas. La especie más dominante la Raoultella ornithinolytica con 2,993 lecturas acumuladas, seguido de Gemmatimonas phototrophica con 1,803 lecturas acumuladas, esto podría incidir en el alto contenido de nitrógeno y fósforo obtenido en el análisis de suelo con 48 ppm de N y 52 ppm de fósforo (P) respectivamente.

El grupo funcional de mayor numero de colonias en este tipo de suelo y piso altitudinal antes descrito fueron Pseudomonas donde encontramos $3,75 \cdot 10^7$ Colonias gr^{-1} en la muestra de suelo y $1,76 \cdot 10^7$ Colonias gr^{-1} en la muestra de raíz lo que nos permite determinar que existe una cantidad superior de Pseudomonas en relación al resto de grupos funcionales en estudio. En Unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (UFC gr^{-1}), encontramos $4,70 \cdot 10^{12}$ UFC gr^{-1} en la muestra de suelo de y $5,25 \cdot 10^{12}$ UFC gr^{-1} en la muestra de raíz lo que nos permite determinar que existe mayor cantidad de microorganismos asociados a la rizosfera de la papa en la muestra de raíz.

Palabras clave: Microorganismos, grupos funcionales, metagenómico.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES

THEME: "IDENTIFICATION OF BACTERIAL CONSORTIA AND FUNCTIONAL GROUPS ASSOCIATED WITH POTATO RHIZOSPHERE (*Solanum tuberosum*), var. LEONA BLANCA ON THE ALTITUDINAL FLOOR OF 3800 MASL. COTOPAXI, 2021"

AUTHOR: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

ABSTRACT

The purpose of this research study was to identify bacterial consortia and determine the functional groups associated with the rhizosphere of the potato crop, super chola variety, at an altitudinal level of 3800 meters above sea level in the community of Cuturuví Chico in the province of Cotopaxi.

Bacterial identification was performed through the nanopore sequencing method with MinION device, with amplification of the 16s genes of the sample and preparation of DNA libraries for sequencing using the barcode kit for subsequent analysis of the resulting readings in the online 16S bioinformatics flow in EPI2ME. For the analysis of the different functional groups, the methodology of (Bernal, Gustavo, 2005) was used as a methodological reference for the determination of nitrogen-fixing bacteria, nitrogen-solubilizing bacteria, fungi, actinomycete, cellulolytic bacteria, pseudomonas. Of the functional groups mentioned, five repetitions were carried out in soil and root plus a blind control where were obtained the number of colonies*gr⁻¹ and the (Colony-forming units) CFU*gr⁻¹ of each one. In addition, a physical-chemical analysis was performed to determine the soil composition, which was sent to the 'INIAP' laboratory.

From the data obtained in the research, Enterobacteriaceae was identified as the dominant families in the soil sample with 75,596 cumulative readings, these are characterized by being phosphorus solubilizers followed by Xanthomonadaceae with 7,042 cumulate readings, which are characterized by having nitrogen-fixing bacteria. The most dominant genus is Raoultella with 4,468 cumulative readings, followed by Rhodanobacter with 3,146 cumulative readings. The most dominant species was Raoultella ornithinolytica with 2,993 cumulative readings, followed by Gemmatimonas phototrophica with 1,803 cumulative readings, which could be related to the high nitrogen and phosphorus content obtained in the soil analysis with 48 ppm of nitrogen (N) and 52 ppm of phosphorus (P), respectively.

The functional group with the highest number of colonies in this type of soil and altitudinal level described above was Pseudomonas, where we found $3,75 \cdot 10^7$ colonies*gr⁻¹ in the soil sample and $1,76 \cdot 10^7$ colonies*gr⁻¹ in the root sample, which allows us to determine that there is a higher quantity of Pseudomonas in relation to the rest of the functional groups under study. In Colony Forming Units per gram of soil (CFU*gr⁻¹), was found $4,70 \cdot 10^{12}$ CFU*gr⁻¹ in the soil sample and $5,25 \cdot 10^{12}$ CFU*gr⁻¹ in the root sample, which allows us to determine that there are more microorganisms associated with the rhizosphere of potato in the root sample.

Keywords: Microorganisms, functional groups, metagenomics.

INDICE DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vi
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vii
AGRADECIMIENTO	viii
DEDICATORIA	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
INDICE DE CONTENIDO	xii
INDICE DE TABLAS.....	xiv
INDICE DE GRAFICOS.....	xiv
CAPÍTULO 1.....	1
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	3
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	5
5. OBJETIVOS.....	6
5.1. Objetivo general.....	6
5.2. Objetivos Específicos	6
6. TABLA DE ACTIVIDADES POR OBJETIVO	7
CAPÍTULO 2.....	8
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	8
7.1. Grupos Funcionales.....	8
7.2. Microbiota del suelo.....	8
7.3. Hongos	8
7.4. Solubilizadores de fosforo	8
7.5. Bacterias celulíticas.....	9
7.6. Actinomicetos	9
7.7. Bacterias fijadoras de nitrógeno	9
7.8. Pseudomonas	10
7.9. Mecanismos de defensa	10
8. INTERFASE SUELO- RAIZ	10
9. RIZOSFERA	10

9.1.	Características de la rizosfera	11
10.	LAS BACTERIAS.....	11
11.	CONSORCIOS BACTERIANOS.....	11
12.	RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL.....	11
13.	CARACTERISTICAS GENERALES.....	12
13.1.	Origen de la papa	12
13.2.	Botánica de la papa (<i>Solanum tuberosum</i>).....	12
13.3.	Clasificación taxonómica	13
CAPÍTULO III.....		14
14.	PREGUNTA CIENTIFICA.....	14
15.	METODOLOGÍA.....	14
15.1.	Método de conteo de UFC.....	14
Objetivo 1: Identificar los consorcios bacterianos asociados a la rizosfera de la papa.....		14
Actividad 1. Delimitación del área de estudio.		14
Actividad 2. Muestreo de la rizosfera del suelo del cultivo de papa.....		15
1. Recolección		15
2. Empaquetado y etiquetado de muestras.....		15
Actividad 3. Análisis genómico microbiano.		16
Actividad 4. Agrupación taxonómica de consorcios bacterianos.		16
1. Árbol de taxonomía para las bacterias identificadas de la muestra de suelo.		16
Objetivo 2: Determinar los diferentes grupos funcionales encontrados en la rizosfera de la papa.		16
.....		16
Actividad 1: Escoger la metodología específica para el cultivo y aislamiento.		16
Actividad 2: Preparación de medios de cultivos específicos para cada grupo funcional a encontrar.		16
Medios de cultivo		16
Actividad 3: Siembra e incubación en los medios de cultivos.....		17
Actividad 4. Preparación de la muestra para recuento de UFC.		17
Actividad 5. Preparación de soluciones seriadas.....		18
1. Método de siembra por disoluciones seriadas.		18
2. Proceso.....		18
3. Método de siembra por fragmento de raíz.		18
Actividad 6. Determinación de la concentración UFC.		19

16.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	20
16.1.	Identificación de consorcios bacterianos	20
16.2.	Determinación de Grupos Funcionales.....	26
16.3.	Concentración de colonias*gr ⁻¹ y UFC*gr ⁻¹ de las muestras obtenidas de suelo y raíz.	26
16.4.	Promedio general de colonias encontrados en los siete Grupos Funcionales.	40
16.5.	Promedio general de UFC encontrados en los siete Grupos Funcionales.....	42
17.	CONCLUSIONES	44
18.	RECOMENDACIONES	45
19.	BIBLIOGRAFÍA	46
20.	ANEXOS.....	50

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Cuadro de actividades por objetivos.....	7
Tabla 2.	Clasificación Taxonómica	13
Tabla 3.	Tabla de genero con mayor representación y relación con los grupos funcionales....	23
Tabla 4.	Tabla de especie con mayor representación y relación con los grupos funcionales. ..	25

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1.	Concentración de colonias*gr ⁻¹ de Población Total de Bacterias.	26
Gráfico 2.	Concentración de UFC*gr ⁻¹ de Población Total de Bacterias.	27
Gráfico 3.	Concentración de colonias*gr ⁻¹ de Población Total de Hongos.	28
Gráfico 4.	Concentración de UFC*gr ⁻¹ de Población Total de Hongos.....	29
Gráfico 5.	Concentracion de colonias*gr ⁻¹ de Bacterias Solubilizadoras de Fósforo.....	30
Gráfico 6.	Concentración de UFC*gr ⁻¹ de Bacterias Solubilizadoras de Fósforo.....	31
Gráfico 7.	Concentración de colonias*gr ⁻¹ de Bacterias Celulolíticas.	32
Gráfico 8.	Concentración de UFC*gr ⁻¹ de Bacterias Celulolíticas.....	33
Gráfico 9.	Concentración de colonias*gr ⁻¹ de Actinomicetes.....	34
Gráfico 10.	Concentración de UFC*gr ⁻¹ de Actinomicetes.....	35

Gráfico 11. Concentración de colonias*gr ⁻¹ de Bacterias Fijadoras de Nitrógeno.	36
Gráfico 12. Concentración de UFC*gr ⁻¹ de Bacterias Fijadoras de Nitrógeno.	37
Gráfico 13. Concentración de colonias*gr ⁻¹ de Pseudomonas.	38
Gráfico 14. Concentración de UFC*gr ⁻¹ de Pseudomonas.	39
Gráfico 15. Promedio general de Colonias.	40
Gráfico 16. Promedio general de UFC.	42

CAPÍTULO 1

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título

“IDENTIFICACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), var. LEONA BLANCA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm. COTOPAXI, 2021”

Fecha de inicio:

Abril 2021

Fecha de finalización:

Agosto 2021

Lugar de ejecución.

Provincia de Cotopaxi, Cantón Pujilí, Sector Cuturivi Chico.

Facultad que auspicia.

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia.

Carrera de Ingeniería Agronómica

Proyecto de investigación vinculado.

Proyecto “IDENTIFICACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), var. LEONA BLANCA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm. COTOPAXI, 2021”

Equipo de trabajo.

Responsable del Proyecto Ing. M.Sc. Wilman Paolo Chasi Vizuete

Tutor: Ing. Jiménez Jácome Cristian Santiago Mg.

Lector 1: Ing. M.Sc. Paolo Chasi Vizuete

Lector 2: Ing. Rafael Hernández Maqueda

Lector 3: Ing. Francisco Hernán Chancusig

Coordinador del Proyecto.

Nombre: Erik Vinicio Chiquimba Pina

Teléfono: 0982423671

Correo electrónico: erik.chiquimba2583@utc.edu.ec

Área de Conocimiento.

1.1. Línea de investigación:

1.1.1. Línea 1: Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local.

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

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

Las muestras recolectadas fueron tomadas dentro de la Provincia de Cotopaxi, localidad de Cuturivi Chico a una altitud de 3800 msnm, donde dicho sector tiene como principal rubro económico el cultivo de papa, donde se recolecto dos muestras, una de raíz y una de suelo de la variedad Leona Blanca para los grupos funcionales y adicionalmente dos muestras de la rizosfera para los análisis metagenómicos y composicionales del suelo; para la realización de la analítica de la investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi, en el laboratorio de Biotecnología del CIBE y Departamento suelo, plantas y Agua de (INIAP) respectivamente.

Para el análisis de los diferentes grupos funcionales se tomó la referencia metodológica de (Viera & Bernal, 2005), donde se utilizó para:

Población Total de Bacterias (AGAR NUTRITIVO)

Población Total de Hongos (AGAR ROSA DE BENGALÉ)

Bacterias Solubilizadoras de Fósforo (AGAR RAMOS CALLAO)

Bacterias Celulolíticas (AGAR EXTRACTO DE SUELO)

Actinomicetes (AGAR CASEINA)

Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (WATANABE)

Pseudomonas (B DE KING)

Cada medio utilizado fue para grupos funcionales específicos en los cuales fueron ubicados con una población de suelo y raíz significativa.

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

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

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

Actualmente, la diversidad de papa en el país proviene de la agricultura familiar, siendo una fuente de sustento para miles de agricultores en medio de la pandemia de covid-19 y la apremiante situación económica que el país vive en la actualidad. Este cultivo es importante, también, porque puede soportar sequías, heladas y crecer desde el nivel del mar hasta los 4000 metros de altitud. Es decir, es más resistente y adaptable al cambio climático. (El Telégrafo, 2019)

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

La raíz se puede considerar como la interfase entre la vida terrestre y el sustrato mineral que aporta un número elevado de elementos esenciales (Epstein, 1972). El estudio de la interacción entre el sistema radical de una planta y su inmediato entorno edáfico es técnicamente difícil e implica un enfoque multidisciplinario para evaluar los factores que influyen sobre las características de la zona de contacto directo entre suelo y raíz.

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

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

El conocimiento que tenemos hoy en día sobre la estructura de las comunidades microbianas que integran los agroecosistemas, a nivel de composición, distribución y función, es muy escaso, pero suficiente como para poner de manifiesto su importancia. Así pues, la estructura de la comunidad microbiana de un ecosistema se puede considerar el indicador biológico más sensible del estado del mismo, puesto que reacciona de manera rápida y reproducible en respuesta a los impactos antropogénicos realizados sobre él. (Nuria Bonilla, 2012)

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

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

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

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

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

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

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

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

5.2. Objetivos Específicos

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

6. TABLA DE ACTIVIDADES POR OBJETIVO

Tabla 1. Cuadro de actividades por objetivos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS	ACTIVIDAD (TAREAS)	RESULTADO DE LA ACTIVIDAD	MEDIO DE VERIFICACIÓN
Identificar los consorcios bacterianos asociados a la rizosfera de la papa.	<ul style="list-style-type: none"> • Delimitación del área de estudio. • Muestreo de la rizosfera del cultivo de papa. • Análisis genómico microbiano. • Agrupación taxonómica consorcios microbianos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Agrupación taxonómica de consorcios bacterianos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis árbol de taxonomía del NCBI para las bacterias identificadas.
Determinar los diferentes grupos funcionales encontrados en la rizosfera de la papa.	<ul style="list-style-type: none"> • Escoger la metodología específica para el cultivo y aislamiento. • Preparación de medios de cultivos específicos para cada grupo funcional a encontrar. • Siembra e incubación en los medios de cultivos. • Preparación de la muestra para recuento de UFC. • Preparación de soluciones seriadas. • Determinación de la concentración UFC. 	<ul style="list-style-type: none"> • Grupos funcionales identificados. • Conteo de UFC por grupo funcional. • Conteo de UFC por gramo de suelo. 	<ul style="list-style-type: none"> • Tabla de grupos funcionales identificados. • Tabla de conteo por colonias y UFC.

Elaborado por: Cruz, Chiquimba, Nasimba & Ortiz, 2021.

CAPÍTULO 2

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1. Grupos Funcionales

Participan de manera directa o indirecta en diferentes etapas de los ciclos de nutrientes siendo parte del proceso de revegetalización e recirculación de la materia orgánica, con la interacción entre sí con la planta, factores físicos y químicos del suelo, indicadores de calidad edáfica o como herramienta biotecnológica disponible para reducir su erosión. (Beltrán Pineda et al., 2017)

Según (Beltrán Pineda & Lizarazo-Forero, 2014), también funcionan como organismos, bioindicadores para identificar turbios en el suelo o la fertilidad a nivel biológico. Permitiendo la restauración de suelos contaminados por varios factores o en proceso de desertificación con el objetivo de mejorar las propiedades física -químicas del ente vivo el suelo.

7.2. Microbiota del suelo

Los microorganismos son una parte importante del sistema agrícola y desempeñan un papel esencial en la rizosfera, que se define como la zona del suelo donde el sistema radical de cualquier planta incide sobre la población y actividad microbiana. (Rodríguez-Sahagún et al., 2020)

7.3. Hongos

Los hongos son microorganismos específicos dominantes en el suelo carente de raíces por su biomasa, su actividad metabólica del entorno radical y en el proceso descomposición de material vegetal (colonizan con las hifas por su mayor diámetro y extensión) mineralización y receptor de nutrientes de las plantas, este asociado con la concentración de carbono en la solución del suelo y degradación como la celulosas, hemicelulosas y ligninas. (Calvo Vélez et al., 2008)

7.4. Solubilizadores de fosforo

Capacidad bacteriana liberando el fosforo en la solución del suelo mediante la acción metabólica del microorganismo y de raíces de las plantas. Para obtener una efectividad en base a la capacidad de los aislados para colonizar la rizosfera y mantener su actividad biológica, esta influenciados por factores como el pH, salinidad y temperatura. (Beltrán Pineda, 2015). Los microorganismos solubilizadores de fosfato (MSF) constituyen un grupo importante de PGPM, pues están

involucrados en un amplio rango de procesos que afectan la transformación del fósforo, siendo componentes integrales del ciclo edáfico de este nutriente. (Fernández-Travieso, 2016)

7.5. Bacterias celulíticas

Organismos comunes que se encuentran en el suelo, como en forestales, abonos y tejidos vegetales en descomposición que actúan sinérgicamente para hidrolizar la celulosa y metabolizar azúcares solubles producidos.(Gaitán & Perez, 2007). Según (Florez et al., 2016) los hongos son los causantes principales de la degradación de la celulosa en el suelo, para favorecer en su captación de carbono y energía. La celulosa siendo principal componente de la pared celular por lo tanto la disminución o aumento de los mismo indica modificaciones en el contenido de la materia orgánica del suelo. (Huallpa Aro, 2018)

7.6. Actinomicetos

Son grupos bacterianos Gran- positivo que tiene la capacidad de producir enzimas biodegradativas como (quitinasas, glucanasas, peroxidasas,) en temperaturas entre 25 y 30 °C y baja tolerancia a la acidez, con un pH de 7 para su reproducción, con una amplia distribución por diferentes ambientes, la mayoría son saprofitos y degradadores de materia orgánica y actúan como agentes de biocontrol en la rizosfera del suelo. (Franco-Correa, 2011)

7.7. Bacterias fijadoras de nitrógeno

Las bacterias producen enzimas que el nitrógeno asimila en forma gaseosa a la atmosfera, fijando el nitrógeno dentro de la biomasa bacteriana, están ubicadas de manera libre en el suelo y fijas en la raíz. Dentro de las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno encontramos dos grupos de organismos. Al primer grupo pertenecen bacterias móviles del suelo, (Rhizobium) que son atraídas hacia la raíz por compuestos que ésta libera, permite que el suelo tenga un intercambio constante de nutrientes y minerales evitando efectos erosivos y perdida en la fertilidad del suelo. (García, 2011)

El segundo grupo está formado por Actinomicetos (bacterias Gram positivas) que modulan raíces, bacterias filamentosas que viven en simbiosis con plantas actinomicinas. La fijación biológica del nitrógeno se realiza en los nódulos radiculares. Los nódulos son el resultado de una perfecta relación de simbiosis entre la planta y las bacterias. (Mantilla et al., 2008)

7.8. Pseudomonas

Son mesófilos de gran negativo que crecen bajo condiciones aerobias y de pH neutro a temperatura de 20°, producen el incremento de fosforo y nitrógeno en forma asimilable para la planta debido a la producción de fitohormonas estimuladoras de actividad vegetativa. Según (Carrasco, 2016). Se caracteriza por su diversidad metabólica e información genética para la producción de vías enzimáticas incluido las fuentes de carbono, promueven el crecimiento de la planta de manera consistente y reduciendo también la incidencia de enfermedades causadas, sobre todo, por un amplio rango de hongos patógenos del suelo. (Reuter, n.d.)

7.9. Mecanismos de defensa

Inhibición de los patógenos por compuestos antimicrobianos

Competencia por el hierro

Competición por sitios de colonización

Nutrientes exudados por la raíz (Cazorla, 2000)

8. INTERFASE SUELO- RAIZ

La estructura del suelo es un factor fundamental que influye sobre las condiciones en que se desarrollan las raíces y por tanto define en parte la interfase raíz-suelo. La raíz es considerada como la interfase entre la vida terrestre y el sustrato mineral que aporta un número elevado de elementos esenciales. El estudio de la interacción entre el sistema radical de una planta y su inmediato entorno edáfico es técnicamente difícil e implica un enfoque multidisciplinario para evaluar los factores que influyen sobre las características de la zona de contacto directo entre suelo y raíz. (Dr . Francisco Bermúdez de Castro y Naya, 2012)

9. RIZOSFERA

Relación única entre la raíz de la planta y los microorganismos del suelo, entre ellos hongos, bacterias, actinomicetos, protozoarios y algas vinculados a la raíz, debemos tener en cuenta que puede ser de carácter nocivo o benéfico. La región del suelo es influenciada por las secreciones de las raíces y la actividad microbiana. También es una zona de amortiguamiento microbiano en donde la microflora, protege a la planta del ataque de patógenos. (Sevilla, 2015)

9.1. Características de la rizosfera

- El crecimiento de las raíces provoca alteraciones profundas que modifican los aspectos de minerales y mecánicos.
- Las raíces liberan cantidades consideradas de materia orgánica.
- El medio donde se forman las raíces para la población microbiana es muy inestable.
- Las raíces empiezan a crecer evolucionan la cual se determina la densidad y diversidad de la comunidad bacteriana rizosferica junto con las condiciones físicas- químicas del medio edáfico.

10. LAS BACTERIAS

Microorganismos de vida libre o asociativas que habitan en la rizosfera estimulando el crecimiento a través de mecanismos como: síntesis de sustancias reguladoras de crecimiento vegetal, fijación de nitrógenos, solubilización de nutrientes, producción de sideróforos y control de fitopatógenos del suelo. Los efectos benéficos de las bacterias del suelo son amplios y van desde la fijación de nitrógeno y la descomposición de la materia orgánica hasta la hidrólisis de agroquímicos y subproductos metabólicos, y el mejoramiento de la biodisponibilidad de nitratos, sulfatos, fosfatos y metales esenciales. (Loredo et al., 2004)

11. CONSORCIOS BACTERIANOS

Permiten estudiar los microorganismos para establecer y permanecer en distintos ambientes en el suelo, los microorganismos y las bacterias del suelo no actúan de manera aislada, sino que refuerzan mediante múltiples relaciones de sinergismo y antagonismos lo que beneficia a un equilibrio establece del sistema edáficos. Se ha registrado mayor efectividad de los consorcios bacterianos para la degradación de compuestos xenobióticos y derivados orgánicos con respecto a cepas bacterianas individuales. (Avellaneda-torres, 2012)

12. RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL

Son bacterias que habitan en la rizosfera, “el suelo” se encuentran unidas a la raíz, mejorando la adaptación y productividad de las especies vegetales a través del tiempo albergando en elevados niveles de microorganismos estimulando el crecimiento vegetal y reduciendo la incidencia de enfermedades, y puede ser considerado como una alternativa para disminuir la aplicación de fertilizantes de síntesis química. (Elías & Arroyo, 2018)

13. CARACTERISTICAS GENERALES

13.1. Origen de la papa

Su origen en la zona andina de América del sur, donde se cultiva en zonas que favorece su crecimiento, por ser una fuente de vegetal, por su alto contenido de carbohidratos y proteínas encontrados en cereales etc. (Calvo Vélez et al., 2008a). En Ecuador, las papas se cultivan hasta una altitud de 4.000 metros sobre el nivel del mar y los productores han elevado su comercialización ya que es una fuente de ingreso dentro de la soberanía alimentaria y el rubro en el futuro. (El Telégrafo, 2019)

La papa es el cuarto rubro económico principal del mundo, después del trigo, el arroz y el maíz. Si bien las papas son relativamente bajas en nutrientes, tienen un alto contenido de carbohidratos, lo que las convierte en una buena fuente de energía. Poseen el mayor contenido proteico (alrededor del 2,1% del peso del producto fresco) de la familia de la raíz y el tubérculo, y proteína de buena calidad, con aminoácidos adecuados para las necesidades humanas. También son ricas en vitamina C: una papa de tamaño mediano contiene casi la mitad de la cantidad diaria recomendada. (FAO, 2006)

13.2. Botánica de la papa (*Solanum tuberosum*)

La papa pertenece a la familia de las solanáceas, es una planta herbácea anual dicotiledónea, aunque puede considerarse perenne por su capacidad de reproducirse vegetativamente a través de los tubérculos. Los tubérculos son tallos subterráneos acortados y engrosados con cogollos que almacenan nutrientes y la parte comercial del cultivo, ya que sirven como producto de consumo y semilla asexual. Posee abundantes raíces fibrosas que alcanzan profundidades de 30 a 40 cm, lo que le da a la planta un buen anclaje. (Agropecuaria et al., 2015)

13.3. Clasificación taxonómica

La papa pertenece a la siguiente categoría taxonómicas

Tabla 2. Clasificación Taxonómica

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Dicotiledónea
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Genero	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Solanum tuberosum</i>

Elaborado por: Chiquimba, 2021.

CAPÍTULO III

14. PREGUNTA CIENTIFICA

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

15. METODOLOGÍA

Investigación experimental con el método cuantitativa – cualitativa con observación directa y revisión bibliográfica.

15.1. Método de conteo de UFC.

El conteo en cada grupo funcional en un medio de cultivo será mediante una solución seriada a cuál se contabilizará 10^{-6} es la norma que recomienda para el conteo en la cámara de Neubauer.

Posterior se aplica la fórmula de UFC por gramo de cultivo para obtener promedios de 10 x 10 UFC.

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

Actividad 1. Delimitación del área de estudio.

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

Figura 1. Ubicación geográfica del lugar de toma de muestras (piso altitudinal)



<u>Coordenadas</u>	<u>Altitud</u>
-1.015860 (LAT)	3800 msnm
-78.737723 (LONG)	

Fuente: Google Earth, 2021.

Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Actividad 2. Muestreo de la rizosfera del suelo del cultivo de papa.

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

1. Recolección

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

2. Empaquetado y etiquetado de muestras.

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

Actividad 3. Análisis genómico microbiano.

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

Para la identificación bacteriana se realizó a través de la secuenciación del gen 16s, para lo cual se asignó códigos de barras para la secuenciación:

-Barcode 01 (A05): ADN obtenido de la muestra de suelo 1.

-Barcode 02 (B05): ADN obtenido de la muestra de suelo 2.

-Barcode 02 (C05): Control negativo (agua).

-Donde amplificaron los genes 16s de cada muestra y preparación de librerías de ADN para secuencias en el MinION Mk1B utilizando el kit de código de barras 16s 1-24 (SQK-16S024).

-Secuenciación de librerías 16s en el MinION de Oxford Nanopore y posterior basecalling en MinKNOW.

Actividad 4. Agrupación taxonómica de consorcios bacterianos.

1. Árbol de taxonomía para las bacterias identificadas de la muestra de suelo.

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

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

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

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

Para el recuento de UFC/ gr⁻¹ de suelo utilizamos manual de análisis de calidad para formulaciones con base de hongos biocontroladores (determinación e viabilidad/concentración de UFC cuantificación por recuento en cajas Petri). (Baez et al., 2019)

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

Para realizar los medios de cultivo específicos se utilizará los siguientes reactivos y procedimientos indicados.

Medios de cultivo

- Agar nutritivo: Población Total de Bacterias (microbiota total). (**Anexo 1**)
- Agar Rosa de Bengala: Población Total de Hongos. (**Anexo 2**)

- Agar Ramos Callao: Bacterias Solubilizadoras de fósforo. (**Anexo 3**)
- Agar extracto de suelo: Bacterias Celulolíticas. (**Anexo 4**)
- Agar Caseína: Actinomicetes. (**Anexo 5**)
- Watanabe: Bacterias Fijadoras de Nitrógeno. (**Anexo 6**)
- B de King: Pseudomonas. (**Anexo 7**)

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

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

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

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

En la misma metodología de (Baez et al., 2019), para recuento detalla los siguientes pasos.

Se tomo tres submuestras 1g para muestras solidas o 1ml con micropipeta para muestras liquidas, luego se colocó las submuestras en tubos de ensayos de 15ml. También se adiciono a cada tubo 9ml de solución estéril de tritón X- 100 al 0.1%. Se agito en el vortex hasta que la muestra se disperse completamente. La suspensión obtenida corresponde a la suspensión madre o dilución 10^{-1} .

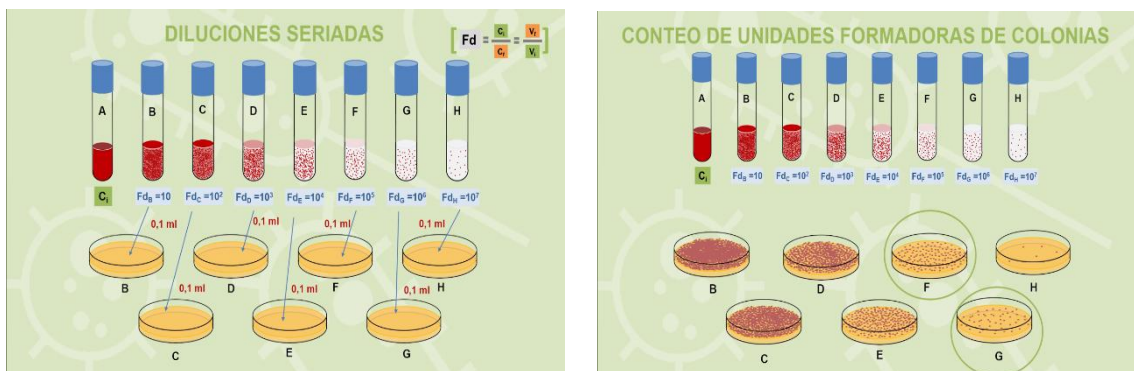
Actividad 5. Preparación de soluciones seriadas.

1. Método de siembra por disoluciones seriadas.

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

2. Proceso.

Se sembró en cajas Petri y se procedió a hacer con conteo del número de colonias que debe ser multiplicado por el factor de diluciones para obtener las UFC por milímetro de nuestra original.



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

Se tomo 100ul (1ml) de la suspensión madre y se colocó en otro tubo con 9ml de solución estéril de Tritón X-100 al 0.1%, luego se agito en el vortex vigorosamente el tubo hasta que la muestra se disperse completamente (dilución 10^{-2}). A partir de dilución 10^{-2} repetir los pasos anteriores tantas veces como sea necesario para alcanzar el número de diluciones deseadas. Se marco con el nombre de la dilución correspondiente (ej. 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , etc.) el número de diluciones dependerá de la concentración del producto generalmente se realiza hasta la dilución 10^{-7} . (Baez et al., 2019)

3. Método de siembra por fragmento de raíz.

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

Actividad 6. Determinación de la concentración UFC.

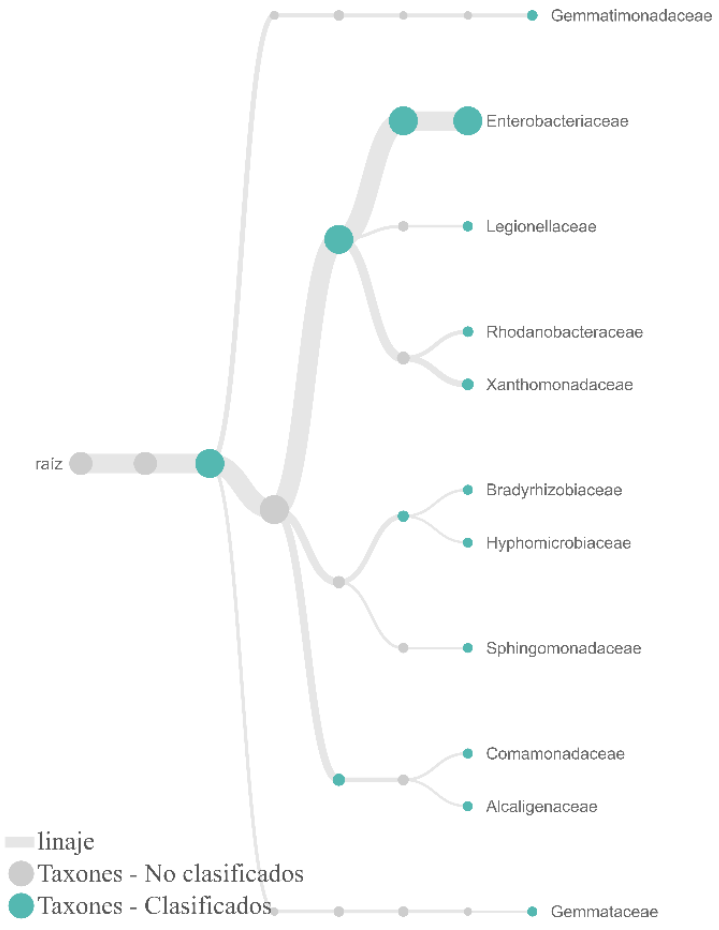
Basados en la concentración del producto reportada por el fabricante, se seleccionó las diluciones a sembrar para realizar el conteo, se destacó que en algunos casos se desconoce la concentración y entonces se debe seleccionar un rango más amplia de diluciones para sembrar. (Baez et al., 2019)

- Rotular las cajas Petri con medio de cultivo PDA con el nombre de la muestra,
- Nombre de la muestra
- Fecha
- Número de dilución siguiente a la del tubo que es utilizado para sembrar.
- Tener 9 repeticiones (cajas inoculadas) por grupo funcional por dilución y se siembra 120 diluciones, es decir nueve cajas Petri por submuestra resultando en total de 120 muestras.

16. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

16.1. Identificación de consorcios bacterianos

Figura 2. Árbol taxonómico por familias para las bacterias identificadas del piso altitudinal de 3800 msnm.



Fuente: Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), 2021.

Como se observa en la (**Figura 3**), de las 187,794 lecturas analizadas con un rendimiento total de 296,2 Mbases, con una longitud de secuencia promedio de 1,577, con una puntuación de calidad promedio de 13,26 se muestra el árbol taxonómico por familias para las bacterias identificadas asociadas a la rizosfera de la papa , encontramos 11 familias, entre la más representativa tenemos la Enterobacteriaceae.

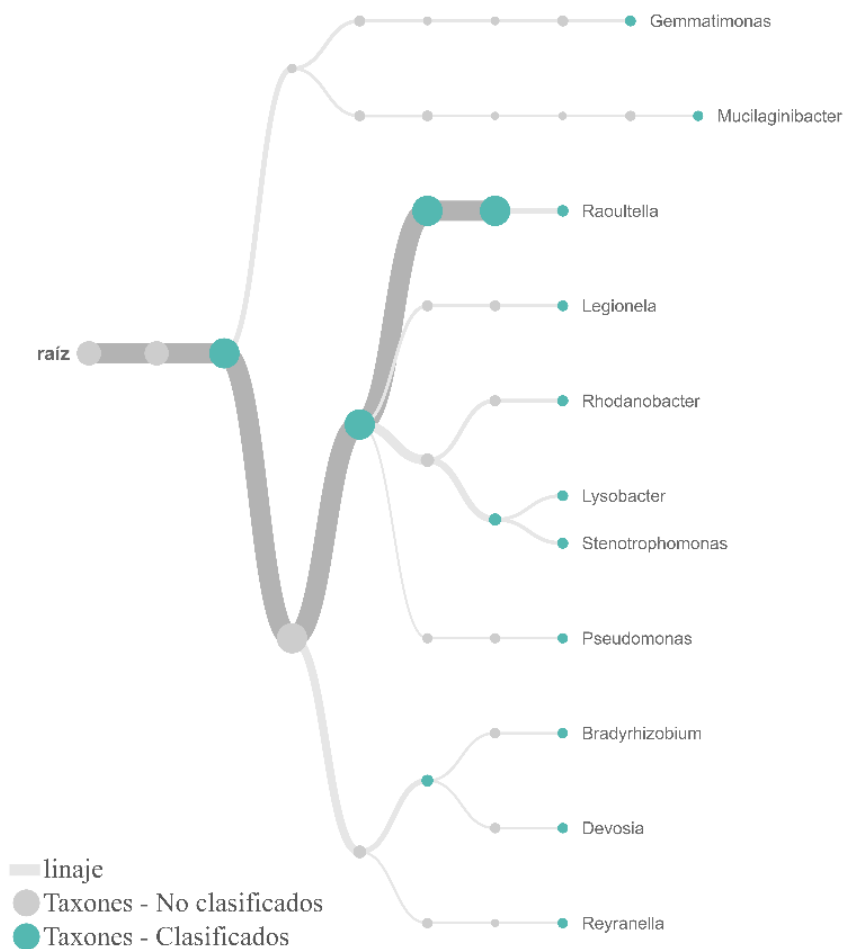
Familia	Lecturas Acumulativas	Grupo Funcional
Enterobacteriaceae	75,596	Bacterias Solubilizadoras de Fósforo
Xanthomonadaceae	7,042	Bacterias Fijadoras de Nitrógeno
Rhodanobacteraceae	3,628	Población Total de Bacterias
Gemmatimonadaceae	2,921	Bacterias celulolíticas
Legionelláceae	2,110	Población Total de Bacterias
Comamonadaceae	1,667	Pseudomonas
Bradyrhizobiaceae	1,444	Bacterias Fijadoras de Nitrógeno
Sphingomonadaceae	1,256	Población Total de Bacterias
Alcaligenaceae	1,242	Bacterias Fijadoras de Nitrógeno
Gemmataceae	1,171	Población Total de Bacterias

Fuente: Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), 2021.

Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se muestran en la (**Tabla 3**), las familias Enterobacteriaceae, Rhodanobacteraceae y Rhodanobacteraceae son las de mayor prevalencia con lecturas acumulativas de 75,596, 7,042 y 3.628 respectivamente; podemos decir que dentro de la familia Enterobacteriaceae existe bacterias pertenecientes al grupo funcional bacterias solubilizadoras de fósforo, seguido de las familias Xanthomonadaceae, Bradyrhizobiaceae y Alcaligenaceae son parte del grupo de bacterias fijadoras de nitrógeno, esto corrobora con lo expuesto por (Lara Mantilla et al., 2007) donde textualmente indica que los solubilizadores de fosforo y las bacterias fijadoras de nitrógeno son grupos funcionales que proporcionan al medio compuestos nitrogenados aprovechados por los vegetales.

Figura 3. Árbol taxonómico por género para las bacterias identificadas del piso altitudinal de 3800 msnm.



Fuente: Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), 2021.

Como se observa en la **(Figura 4)**, el árbol taxonómico por géneros para las bacterias identificadas del piso altitudinal de 3800 msnm en el cultivo de papa, encontramos 11 géneros, entre el más representativo es el Raoultella.

Tabla 3. Tabla de genero con mayor representación y relación con los grupos funcionales.

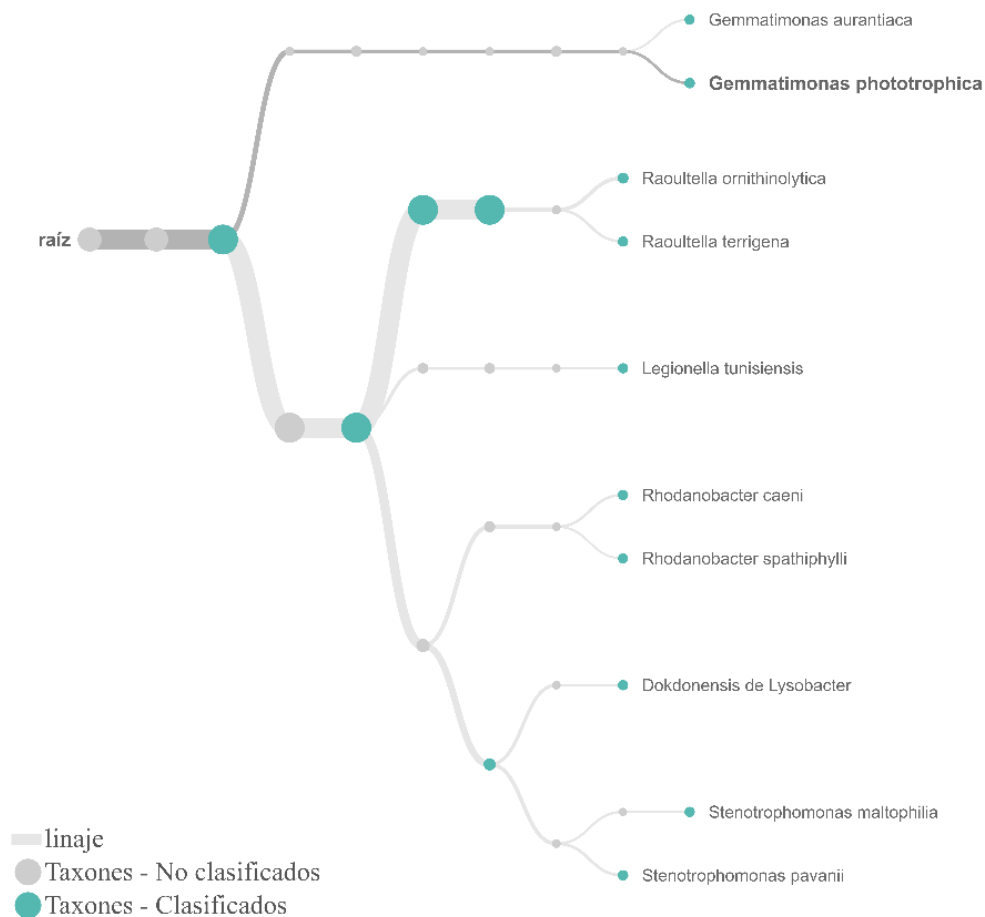
Género	Lecturas Acumulativas	Grupo Funcional
Raoultella	4,468	Bacterias Solubilizadoras de Fósforo
Rhodanobacter	3,146	Población Total de Bacterias
Stenotrophomonas	3,014	Bacterias Fijadoras de Nitrógeno
Gemmatimonas	2,449	Bacterias celulolíticas
Lysobacter	2,409	Bacterias Fijadoras de Nitrógeno
Legionela	2,047	Población Total de Bacterias
Bradyrhizobium	962	Bacterias Fijadoras de Nitrógeno
Devosia	894	Población Total de Bacterias
Reyranella	687	Población Total de Bacterias
Mucilaginibacter	677	Población Total de Bacterias

Fuente: Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), 2021.

Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se muestran en la **(Tabla 4)**, el género Raoultella, Rhodanobacter y Stenotrophomonas son las de mayor prevalencia con lecturas acumulativas de 4,468, 3,146 y 3,014 respectivamente; podemos decir que el género Raoultella pertenece al grupo funcional bacterias solubilizadoras de fósforo, seguido de los géneros Rhodanobacter, Stenotrophomonas, Lysobacter y Bradyrhizobium son parte del grupo de bacterias fijadoras de nitrógeno, esto corrobora con lo expuesto por (Sanclemente & Patiño, 2014) donde menciona que estos grupos funcionales tiene un proceso de amplia dispersión en los suelos del mundo, cuyas bases biológicas están relativamente bien entendidas, lo que puede apoyar al desarrollo sostenible para la nutrición de los cultivos.

Figura 4. Árbol taxonómico por especie para las bacterias identificadas del piso altitudinal de 3800 msnm.



Fuente: Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), 2021.

Como se observa en la **(Figura 5)**, el árbol taxonómico por especie para las bacterias identificadas del piso altitudinal de 3800 msnm en el cultivo de papa variedad Leona Blanca, encontramos 10 especies, entre la más representativa tenemos la especie *Raoultella ornithinolytica*.

Tabla 4. Tabla de especie con mayor representación y relación con los grupos funcionales.

Especie	Lecturas Acumulativas	Grupo Funcional
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2,993	Bacterias Solubilizadoras de Fósforo
<i>Gemmatimonas phototrophica</i>	1,803	Bacterias celulolíticas
<i>Stenotrophomonas pavanii</i>	1,782	Bacterias Fijadoras de Nitrógeno
<i>Raoultella terrigena</i>	1,451	Bacterias Solubilizadoras de Fósforo
<i>Rhodanobacter caeni</i>	1,390	Población Total de Bacterias
<i>Dokdonensis de Lysobacter</i>	1,173	Bacterias Fijadoras de Nitrógeno
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,089	Bacterias Fijadoras de Nitrógeno
<i>Legionella tunisiensis</i>	816	Población Total de Bacterias
<i>Rhodanobacter spathiphylli</i>	682	Población Total de Bacterias
<i>Gemmatimonas aurantiaca</i>	646	Bacterias celulolíticas

Fuente: Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), 2021.

Elaborado por: Chiquimba, 2021.

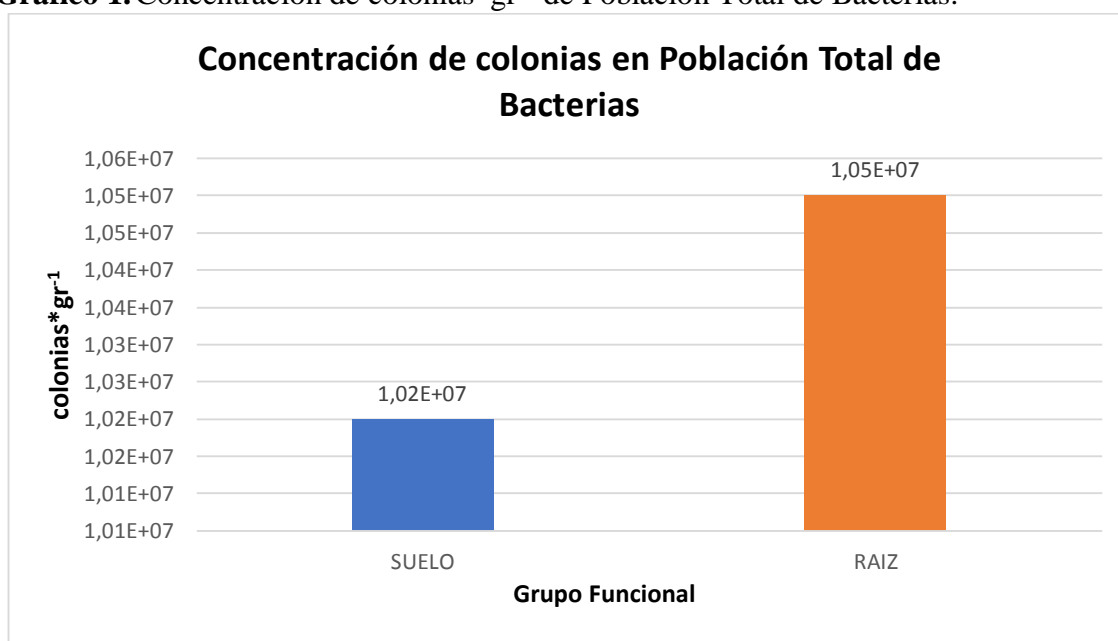
Como se observa en la (**Tabla 5**), las especies *Raoultella ornithinolytica* y *Gemmatimonas phototrophica* son las de mayor prevalencia con lecturas acumulativas de 2,993 y 1,803 respectivamente; podemos decir que el género *Raoultella ornithinolytica* pertenece al grupo funcional bacterias solubilizadoras de fósforo, seguido de las especies *Rhodanobacter caeni*, *Legionella tunisiensis* y *Rhodanobacter spathiphylli* son parte del grupo de población total de hongos, esto coincide con lo expuesto por (Calvo Vélez et al., 2008c) que nos menciona que el componente microbiano del suelo es importante para la salud de los ecosistemas y también sirve de protección a la planta frente al ataque de patógenos.

16.2. Determinación de Grupos Funcionales.

La interpretación de los resultados se los realizo de acuerdo a los datos obtenidos por el conteo de colonias mediante el Contador de colonias en UFC*gr y del conteo de conidios mediante el uso de la Cámara de Neubauer en conidios*gr. A continuación, se realiza la descripción de las Figuras de barras.

16.3. Concentración de colonias*gr⁻¹ y UFC*gr⁻¹ de las muestras obtenidas de suelo y raíz.

Gráfico 1. Concentración de colonias*gr⁻¹ de Población Total de Bacterias.



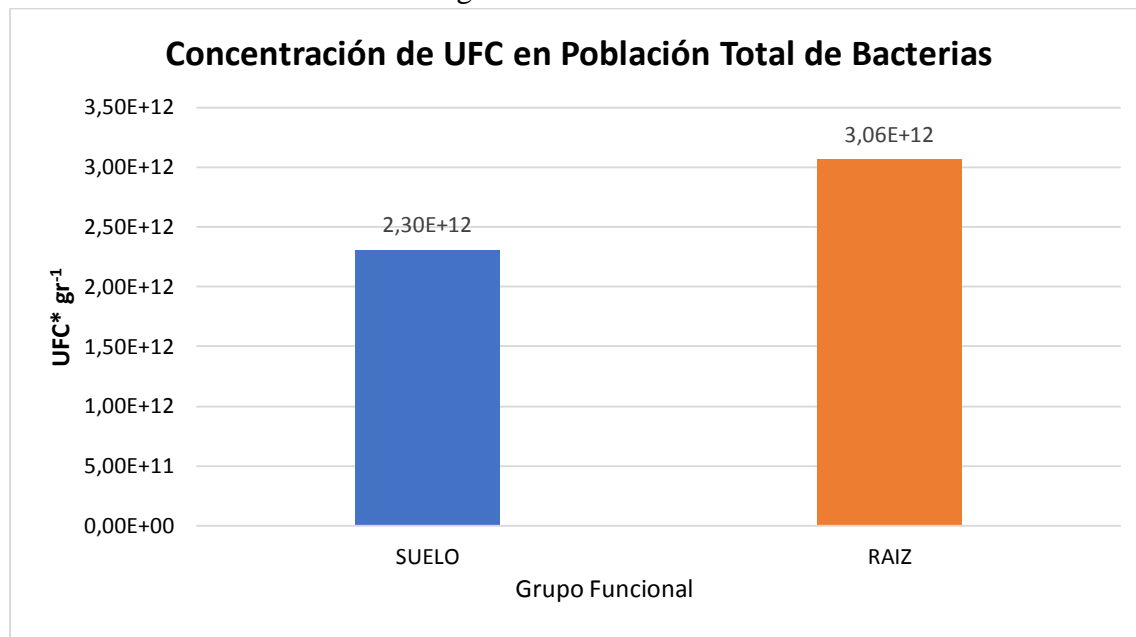
Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 1**), encontramos $1,02 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en suelo y $1,05 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en raíz, lo que nos permite determinar que las bacterias predominan mucho más en las muestras de la raíz que en las muestras de suelo.

La muestra de raíz tuvo mayores presencia, en el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**) y (Calvo Vélez et al., 2008c) nos menciona que en suelos con un pH de 5.6, existen los microorganismos más beneficiosos para los cultivos, además la abundancia de bacterias en la rizosfera en comparación con otros microorganismos puede deberse a su rápido crecimiento y capacidad para utilizar una amplia gama de sustratos como fuentes de carbono o nitrógeno. La

cantidad de bacterias que se encontrarán depende de muchos factores como: la temporada, el tipo de suelo, la vegetación, el nivel de humedad, el tipo de labranza y fertilización.

Gráfico 2. Concentración de UFC*gr⁻¹ de Población Total de Bacterias.

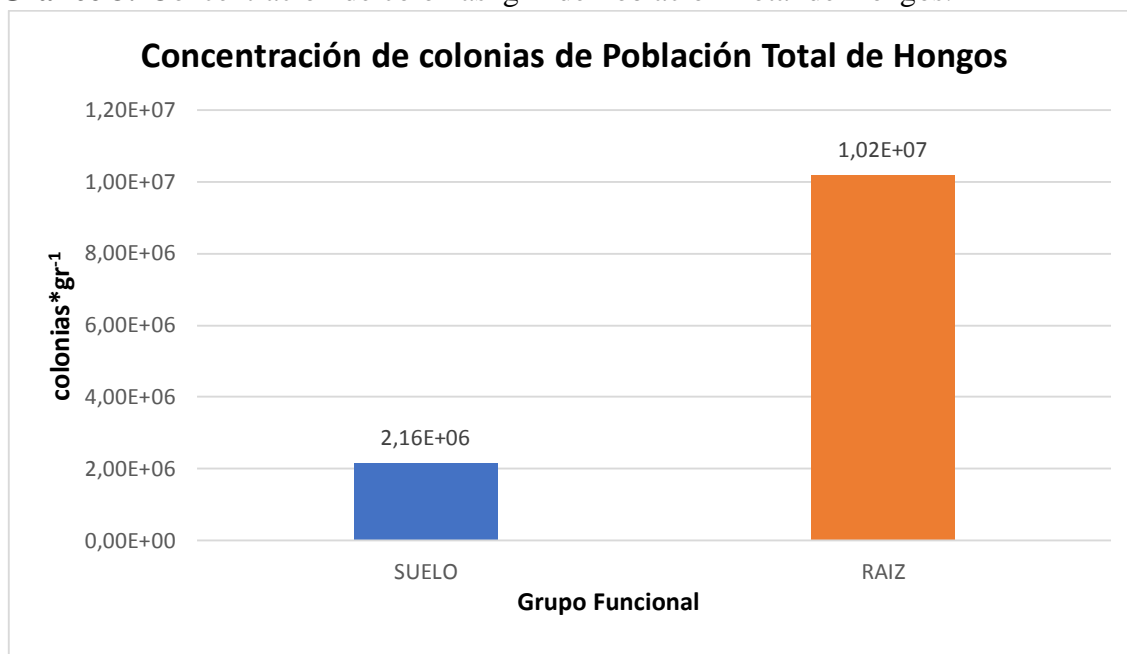


Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 2**), encontramos $2,30 \cdot 10^{12}$ UFC*gr⁻¹ en suelo y $3,06 \cdot 10^{12}$ UFC*gr⁻¹ en raíz, lo que nos permite determinar que ambas muestras tienen gran presencia de microorganismos, siendo la muestra de raíz la de mayor presencia.

La microbiota total juega un papel fundamental en la nutrición de la planta y en su defensa frente a enfermedades con una gran variedad de microorganismos, el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), se observa elementos necesarios para el desarrollo de microbiota total en los medios de cultivo se presentó de forma favorable debido a las condiciones que se presentaron en el laboratorio, con lo que expresa (De TomateRodríguez Limach & Julia, n.d.) y nos dice que la población microbiana en la rizosfera es considerablemente mayor que la de los suelos sin raíces y es fisiológicamente más activa, es decir, las poblaciones microbianas son mayores en la rizosfera.

Gráfico 3. Concentración de colonias*gr⁻¹ de Población Total de Hongos.

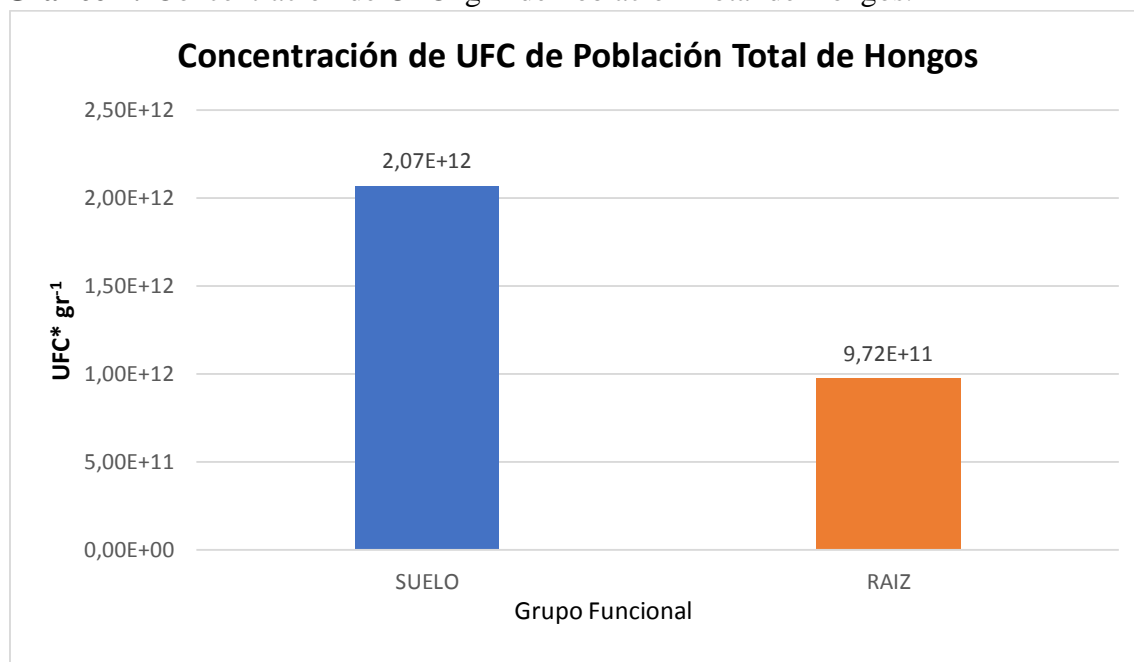


Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 3**), encontramos $2,16 \cdot 10^6$ colonias*gr⁻¹ en suelo y $1,02 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en raíz, lo que nos permite determinar que existe gran cantidad de hongos en las muestras de raíz asociados a la rizosfera de la papa.

Según (Pacasa et al., 2017) menciona que la mayor abundancia de hongos se encuentra en las capas superficiales del suelo, pero (Auxiliadora et al., 2009) en un su experimento que realizo menciona que aunque existe una alta población microbial que se concentra en la rizosfera. El Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), nos muestra un pH de 5.88 en el cual se desarrollaron los hongos, esto corrobora con lo expuesto por (Pereira et al., 2007) donde nos dice que pH entre 4,8 y 7,8 tiene efecto significativo sobre el desarrollo de los mismos.

Gráfico 4. Concentración de UFC*gr⁻¹ de Población Total de Hongos.

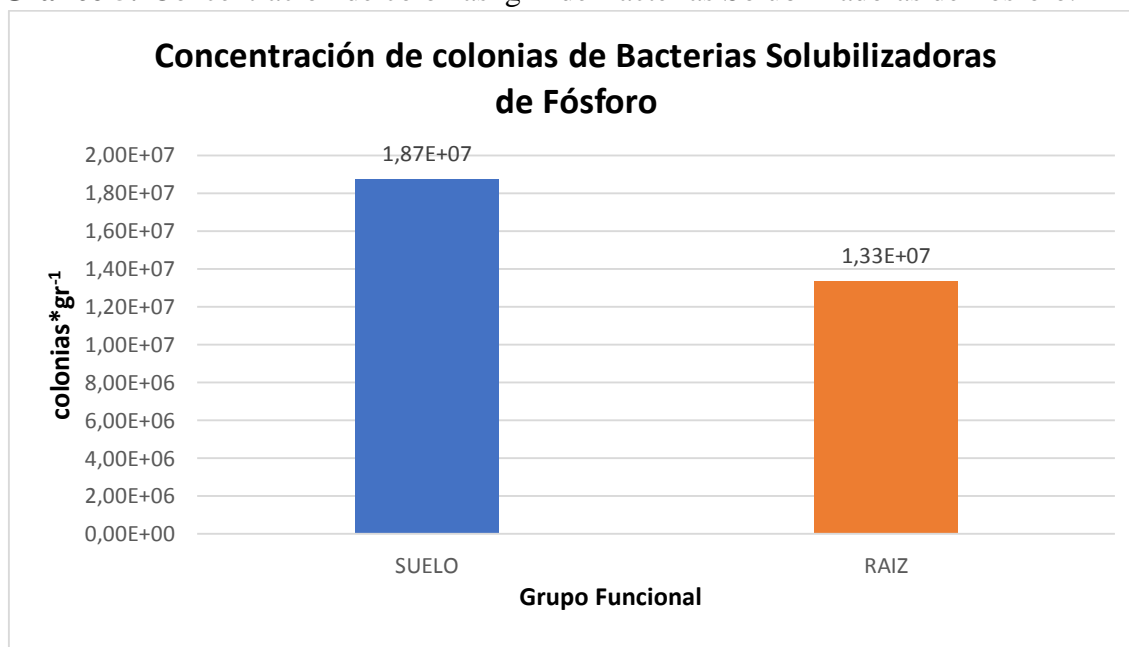


Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 4**), encontramos $2,07 \cdot 10^{12}$ UFC*gr⁻¹ en suelo y $9,72 \cdot 10^7$ UFC*gr⁻¹ en raíz, lo nos permite determinar que la muestra de suelo tiene mayor abundancia de hongos en la muestra de suelo.

La presencia de hongos resulto más favorables en la muestra de suelo, debido a que se presentó en mayor cantidad en la cantidad de conidios, lo que indica que aún en ausencia de un suelo con pH de 5.88, este grupo funcional puede desarrollarse, ya que necesita varios nutrientes en el suelo, como es el caso del Ca. En el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), el calcio tiene un valor alto lo que lo que se puede corroborar con lo expresado con (Higuera, 2019) y nos dice que los hongos metabolizan compuestos muy difíciles de degradar, además producen enzimas y metabolitos que contribuyen al ablandamiento y a la transformación de sustancias orgánicas y su distribución en el suelo está determinada por la disponibilidad de carbono orgánico.

Gráfico 5. Concentracion de colonias*gr⁻¹ de Bacterias Solubilizadoras de Fósforo.



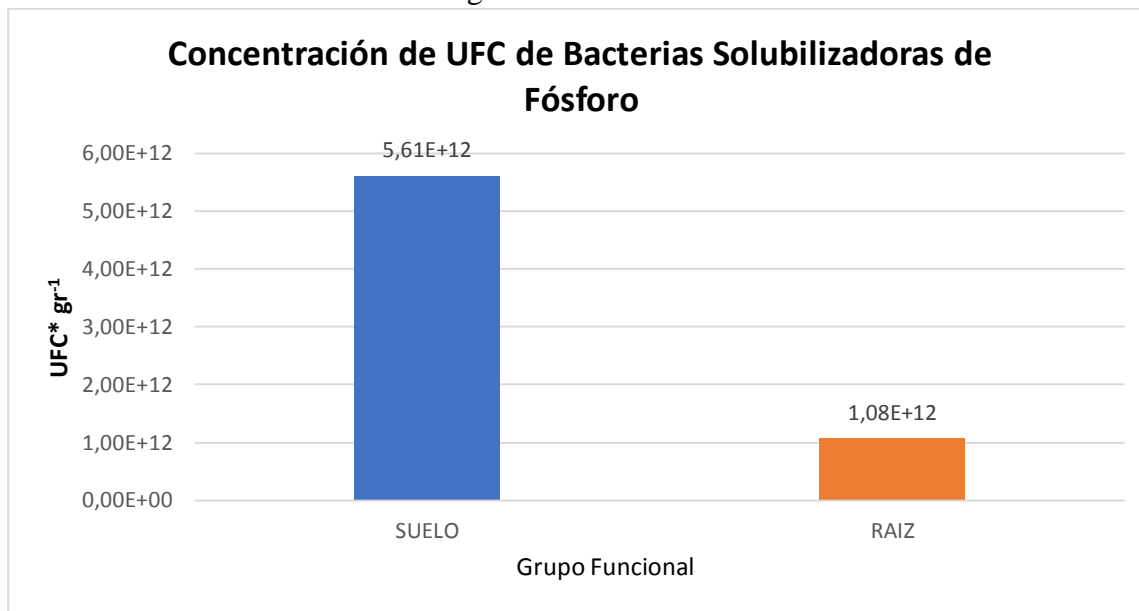
Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 5**), encontramos $1,87 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en suelo y $1,33 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en raíz, lo que nos permite determinar que existe presencia de bacterias solubilizadoras de fósforo en la muestra de suelo.

Según (Chan-Cupul et al., 2018) menciona que uno de los macronutrientes que las plantas requieren para su adecuado desarrollo y crecimiento, además la disponibilidad de P para las plantas está relacionada con su concentración en la disolución de suelo, lo que en el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), se detectó un pH de 5.88 que hace referencia a la muestra obtenida y que el fósforo tiene más representación y un valor alto que hace que las bacterias solubilizadoras de fósforo puedan ser observadas con mayor visibilidad.

Los valores de UFC por gramo de suelo son superiores, (M. Torres & Lizarazo, 2006) quien menciona que las bacterias solubilizadoras de fósforo existen efectivamente como parte de la microflora nativa de los suelos y sus niveles poblacionales fluctúan entre 1,7 y 1,58 colonias*gr⁻¹ de suelo y de raíz.

Gráfico 6. Concentración de UFC*gr-1 de Bacterias Solubilizadoras de Fósforo.

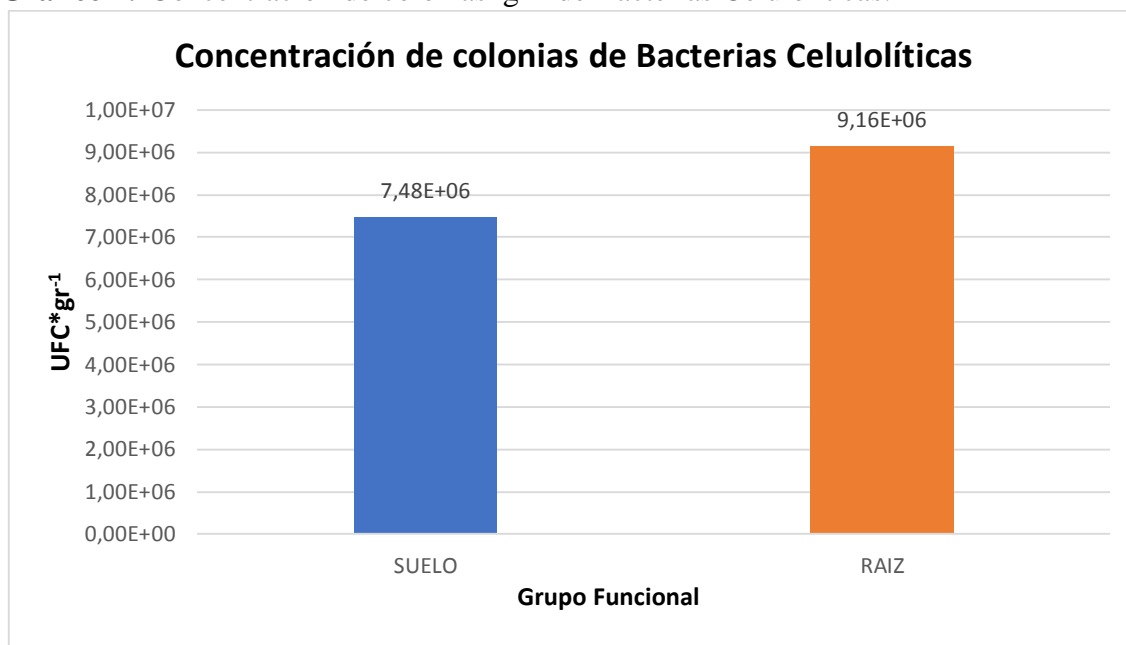


Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 6**), encontramos $5,61 \cdot 10^{12}$ UFC*gr⁻¹ en suelo y $1,08 \cdot 10^{12}$ UFC*gr⁻¹ en suelo, lo que nos permite determinar que existe mayor presencia de fósforo en la muestra de proveniente del suelo.

El desarrollo de bacterias solubilizadoras de fosforo en el medio de cultivo específico, tuvieron más presencia en la muestra de suelo debido a que según (SMART, 2020) nos dice que los tipos de compuestos de fósforo que existen en el suelo son principalmente determinados por el pH del suelo y por el tipo y la cantidad de los minerales en el suelo, además de que el rango de pH óptimo para la disponibilidad máxima del fósforo es de 6.0-7.0. Lo que podemos observar que en el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), nos muestra un porcentaje de fósforo en una cantidad alta, y también que el pH encontrado es de 5.88, es decir, que a pesar de encontrar un pH bajo son capaces de desarrollarse.

Gráfico 7. Concentración de colonias*gr⁻¹ de Bacterias Celulolíticas.

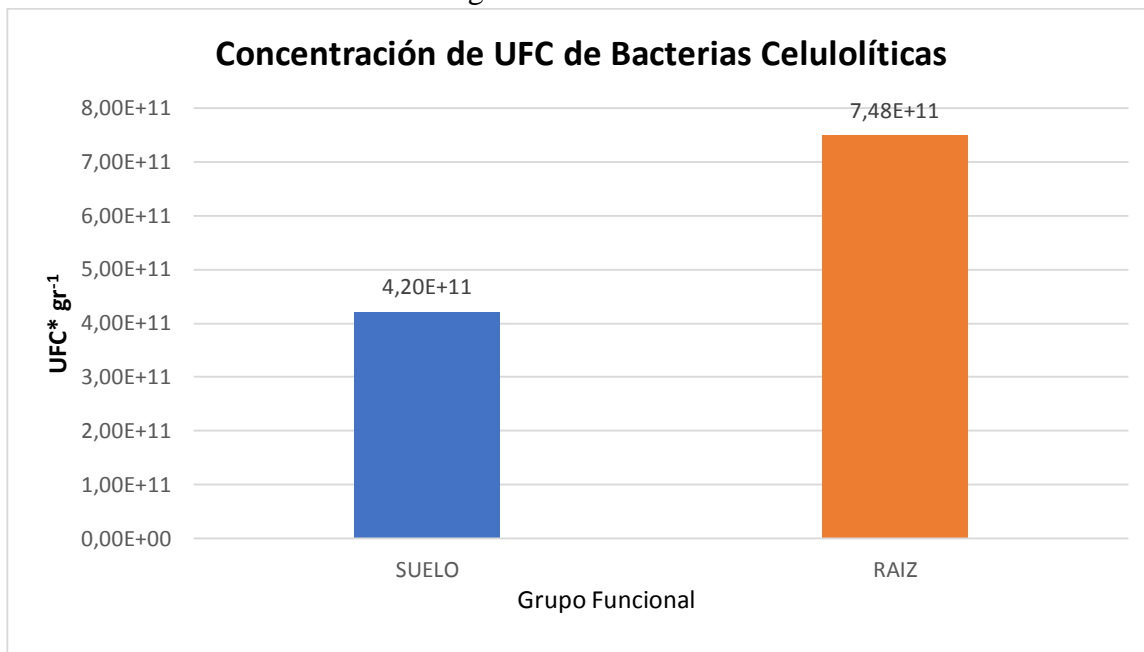


Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 7**), encontramos resultados de $7,18 \cdot 10^6$ colonias*gr⁻¹ en suelo y $9,16 \cdot 10^6$ colonias*gr⁻¹ en raíz, lo que nos permite determinar que en ambas muestras existe presencia de bacterias celulolíticas.

Las bacterias celulíticas tienen la capacidad de la degradación de la celulosa en los residuos sólidos orgánicos, según (Andrea Viteri Florez & Arturo Castillo Guerra Silvio Edgar Viteri Rosero, 2016) menciona que debido a que gran parte de la vegetación que pasa a formar parte del suelo es celulosa, la descomposición de este carbohidrato tiene una importancia muy especial, de ahí los microorganismos del suelo que catabolizan la hidrólisis del material vegetal. Lo que nos permite concluir que tanto en la muestra de suelo y raíz estas bacterias están presentes debido a que el suelo contiene una materia orgánica lo que hace posible el desarrollo de estas bacterias y corroborando con el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**).

Gráfico 8. Concentración de UFC*gr⁻¹ de Bacterias Celulolíticas.

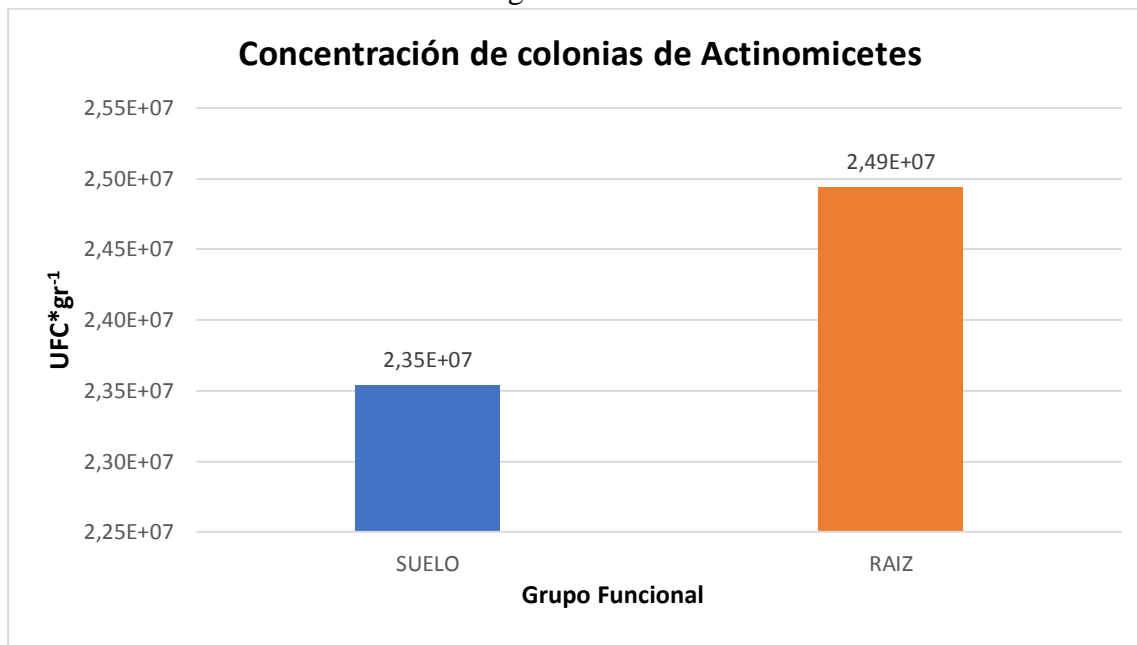


Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 8**), encontramos resultados de $4,20 \cdot 10^{11}$ UFC*gr⁻¹ en suelo y $7,48 \cdot 10^{11}$ UFC*gr⁻¹ en raíz, lo que se puede determinar que existe mayor presencia de bacterias celulolíticas en la muestra proveniente del suelo.

Estas bacterias tienen la habilidad de producir celulasas, enzimas que pueden hidrolizar la celulosa, (Herrera, 2015) menciona que los microorganismos celulolíticos colonizan una gran variedad de ambiente con mayor capacidad provenientes del suelo, además estos producen una variedad de módulos enzimáticos que actúan sinérgicamente sobre la celulosa. Algunos nutrientes no se los puede encontrar en el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), debido a que no existen muchos reportes sobre la regulación de la producción de celulasas.

Gráfico 9. Concentración de colonias*gr⁻¹ de Actinomicetes.

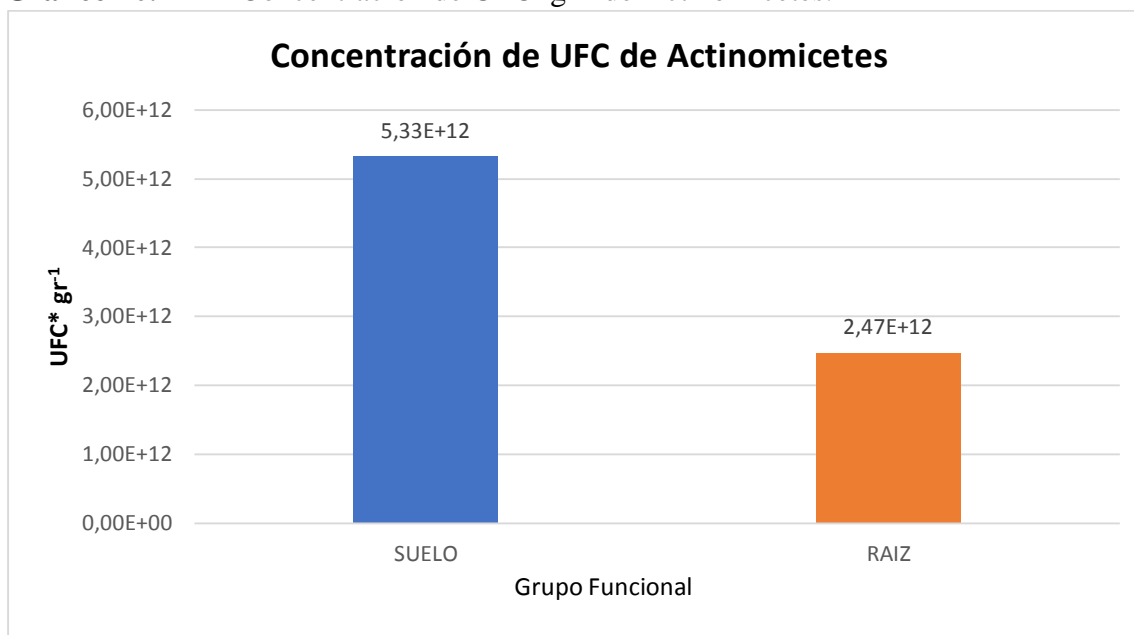


Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 9**), encontramos resultados de $2,35 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en suelo y $2,49 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en raíz, lo que nos permite determinar que existe mayor presencia cantidad de actinomicetos asociados a la rizosfera de la papa en la muestra de raíz.

Esto nos permite concluir que los actinomicetos pueden desarrollarse en ambientes con pH ácidos y alcalinos teniendo en cuenta que esto sirve de fuente para el desarrollo de actinomicetos; lo que corrobora a lo expuesto por (Guevara et al., 2017), menciona que el hábitat de los actinomicetos es variado, desde ambientes terrestres, también menciona que la temperatura óptima para su crecimiento y reproducción es de 20 °C a 42 °C y con pH óptimo cerca de 5.5. En donde en el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), nos muestra un pH de 5.88, para lo cual los actinomicetos se desarrollaron normalmente.

Gráfico 10. Concentración de UFC*gr⁻¹ de Actinomicetes.

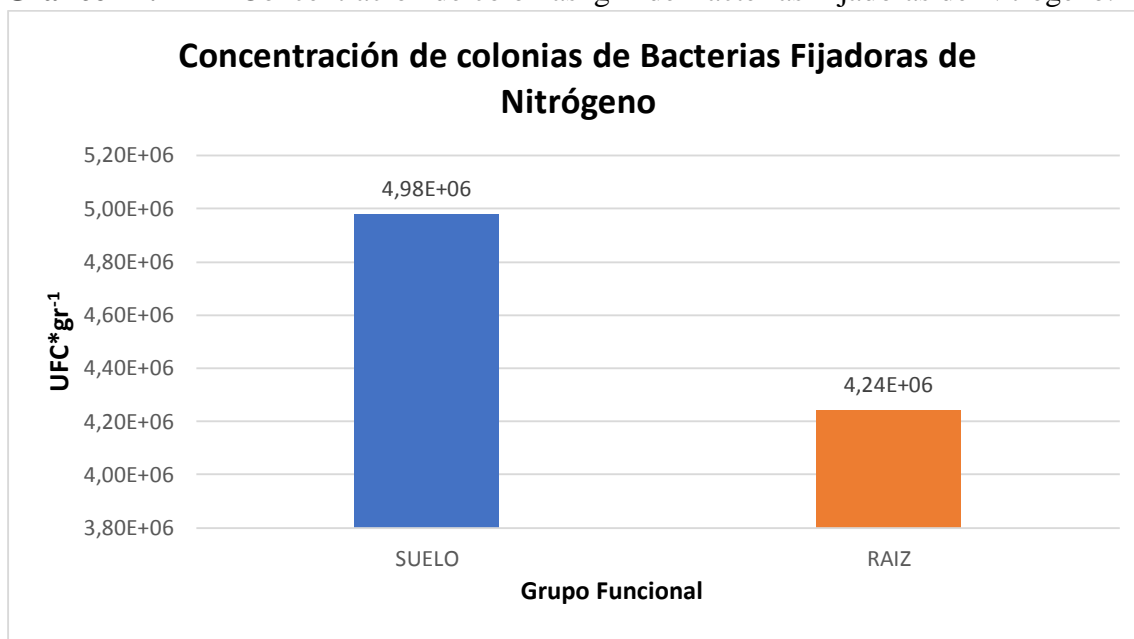


Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 10**), encontramos resultados de $5,35 \cdot 10^{12}$ UFC*gr⁻¹ en suelo y $2,47 \cdot 10^{12}$ UFC*gr⁻¹ en raíz, lo que nos permite determinar que existe gran cantidad de actinomicetes asociados a la rizosfera de la papa.

El desarrollo de actinomicetes en el medio de cultivo específico nos dice que la población es de gran interés para determinar la calidad del suelo, porque su presencia demuestra que el suelo es sano y que mantiene los niveles de nutrientes elevados para ser productivo corroborando también con el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**). Según (Franco-Correa, 2010), menciona que los actinomicetos existen en abundancia en el suelo y que la capacidad de dichos microorganismos para colonizar preferencialmente las interfases suelo-raíz, donde mantienen poblaciones de individuos. Además, también menciona que, aunque hay numerosos estudios referentes a las interacciones de actinomicetos se conocen escasamente, por lo que se requieren investigaciones que permitan la confirmación experimental adicional sobre actividades y mecanismos relacionados.

Gráfico 11. Concentración de colonias*gr⁻¹ de Bacterias Fijadoras de Nitrógeno.

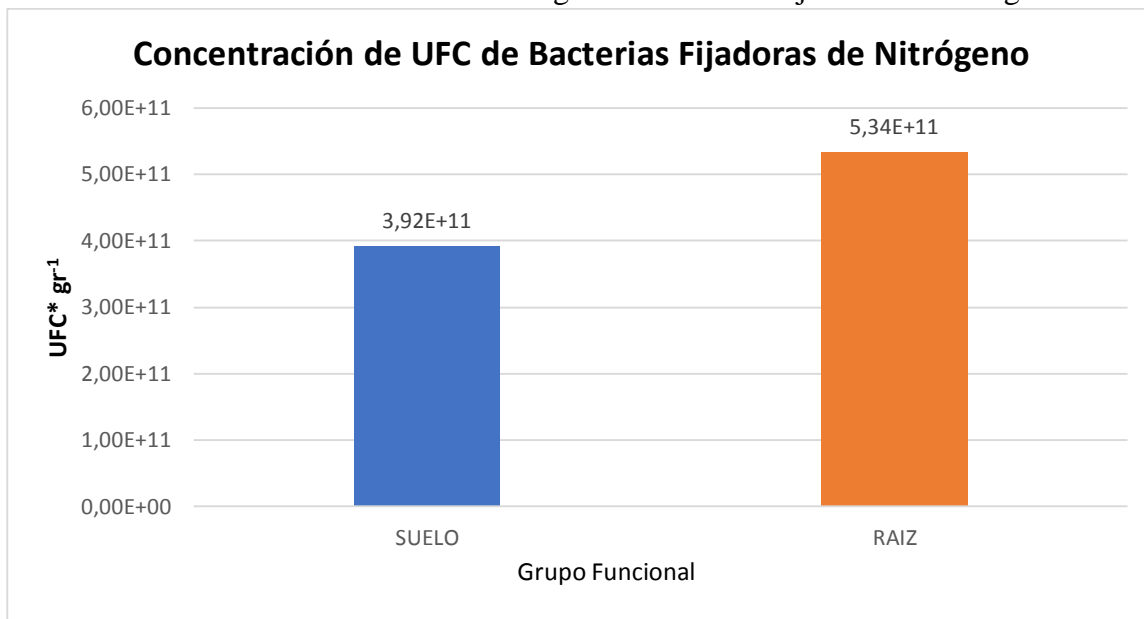


Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 11**), encontramos resultados de $4,98 \cdot 10^6$ colonias*gr⁻¹ en suelo y $4,24 \cdot 10^4$ colonias*gr⁻¹ en raíz, lo que nos permite determinar que existe mayor presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno en las muestras de suelo.

Según (Ideagro, 2011) menciona que las bacterias fijadoras de nitrógeno de los géneros utilizan con mayor frecuencia como fertilizantes orgánicos en la agricultura, por lo que los mecanismos de acción de estas bacterias son diversos. Además, también nos dice que el nitrógeno fijado en el suelo por las bacterias se encuentra disponible directamente justo en el lugar donde es requerido. Lo que corrobora con la muestra del Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), donde nos presenta un contenido de nitrógeno medio el cual hace posible que estas bacterias estén más presentes en el suelo.

Gráfico 12. Concentración de UFC*gr⁻¹ de Bacterias Fijadoras de Nitrógeno.

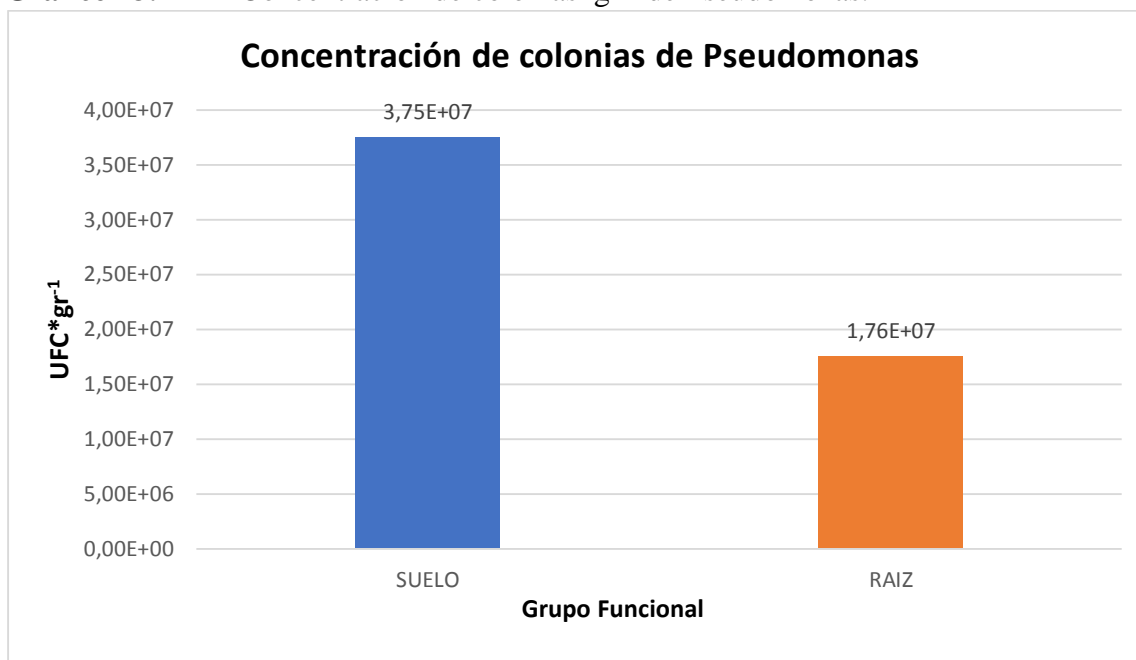


Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 12**), encontramos resultados de $3,92 \cdot 10^{11}$ UFC*gr⁻¹ en suelo y $5,34 \cdot 10^{11}$ UFC*gr⁻¹ en raíz, lo que nos permite determinar que contienen mayor presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno en la muestra de raíz.

En este grupo funcional se presentó con mayor incidencia de bacterias fijadoras de nitrógeno en la muestra que representa a la raíz, ya que según (Ideagro, 2011) menciona que estas bacterias están más presentes en la raíz que en el suelo debido a que en el suelo se encuentran bacterias móviles que son atraídas hacia la raíz por compuestos que ésta libera. Lo que corrobora con el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), tiene un porcentaje medio de nitrógeno lo que hace posible que estas bacterias se desarrollen gracias a la interacción que existe entre las bacterias móviles con la rizosfera.

Gráfico 13. Concentración de colonias*gr⁻¹ de Pseudomonas.

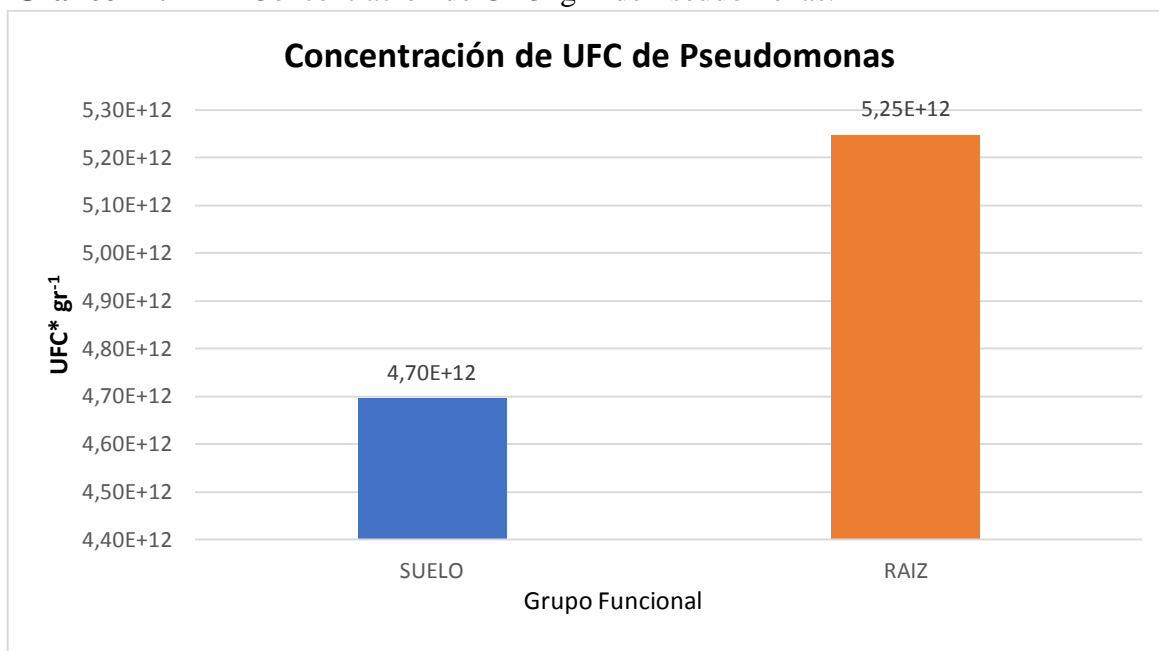


Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 13**), encontramos resultados de $3,75 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en suelo y $1,76 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en raíz, lo que nos permite determinar que existe mayor presencia de pseudomonas en las muestras de suelo.

Según (Reuter, 2015) menciona que las Pseudomonas se encuentran típicamente en las plantas y en el suelo, donde actúan como actores clave en eventos cruciales para el medio ambiente, además producen un aumento en la disponibilidad de fósforo y nitrógeno en forma asimilable para la planta debido a la actividad vegetativa. Lo que se puede corroborar con el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), que se puede encontrar N y P que quiere decir que la muestra de suelo es adaptable para que se puedan desarrollar las pseudomonas.

Gráfico 14. Concentración de UFC*gr⁻¹ de Pseudomonas.



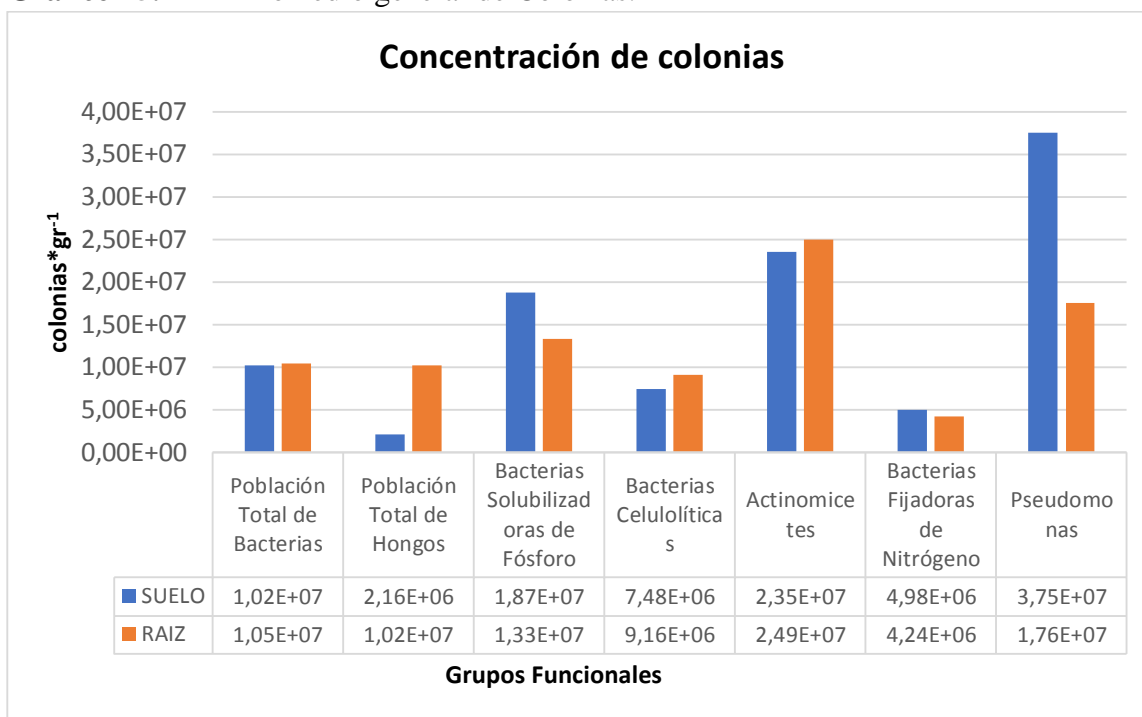
Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 14**), encontramos resultados de $4,70 \cdot 10^{12}$ UFC*gr⁻¹ en suelo y $5,25 \cdot 10^7$ UFC*gr⁻¹ en raíz, lo que nos permite determinar que existe mayor presencia de pseudomonas en la muestra de la raíz.

Las pseudomonas se presentó en mayor cantidad de conidios*gr⁻¹ en la raíz, lo que según con lo expuesto por según (Pérez Álvarez et al., 2015), menciona que las pseudomonas se encuentran presentes en el suelo y en el agua lo que corrobora con el Análisis Microelemental de INIAP (**Anexo 30**), además se puede observar que existe mayor presencia en la raíz y esto es debido a que las Pseudomonas presentan una gran capacidad para utilizar diversidad de nutrientes, razón por la que se explica su ubicuidad.

16.4. Promedio general de colonias encontrados en los siete Grupos Funcionales.

Gráfico 15. Promedio general de Colonias.



Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 15**), encontramos $3,75 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en suelo de pseudomonas en el séptimo grupo funcional, $2,49 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en raíz de actinomicetes en el quinto grupo funcional y $1,87 \cdot 10^7$ colonias*gr⁻¹ en suelo de bacterias solubilizadoras de fósforo en el tercer grupo funcional, lo que nos permite determinar que los grupos funcionales más representativo son las Pseudomonas y Actinomicetes.

Además de su capacidad única para degradar una gran variedad de compuestos orgánicos, (Reuter, 2015) menciona que las Pseudomonas también son conocidas por su mayor tolerancia a las condiciones ambientales desfavorables para el crecimiento de muchas otras bacterias y crecen óptimamente bajo condiciones aerobias y de pH neutro.

Según (Bogotá, 2010) nos menciona que los actinomicetes se pueden encontrar en superficies rocosas y en suelos rizosféricos, ricos en humus, basura y estiércol, sedimentos marinos. La

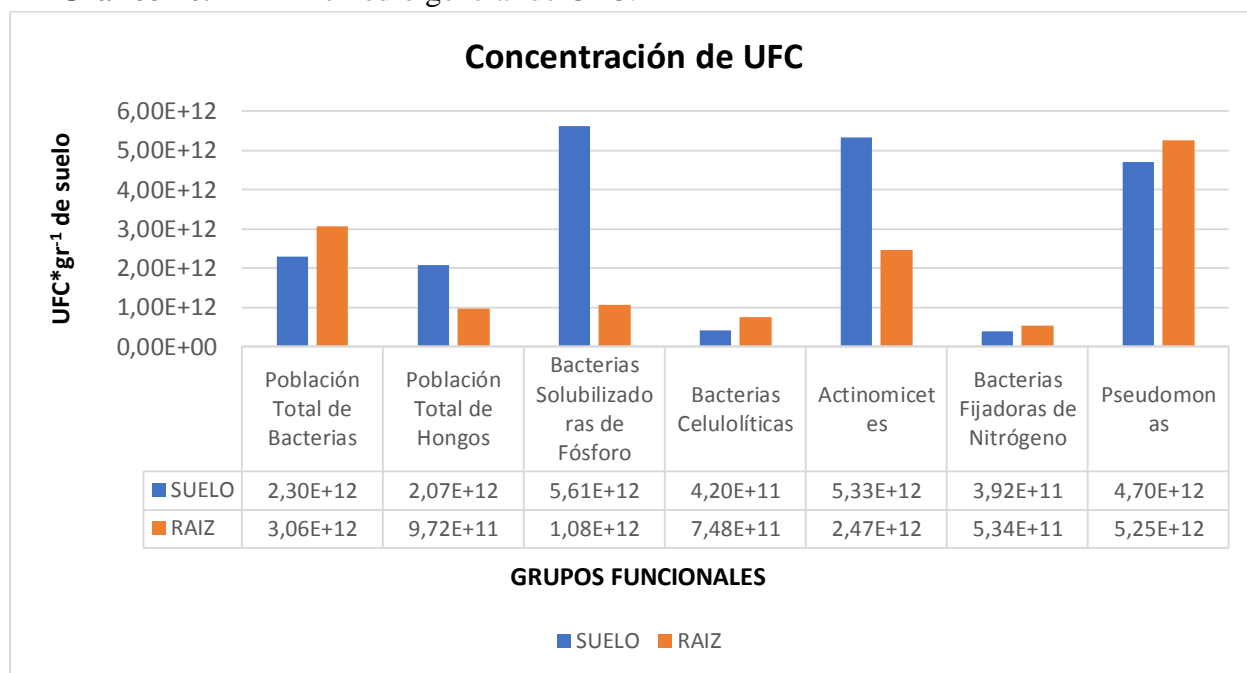
mayoría de las especies son heterótrofas y crecen en un rango de temperatura entre 25 ° C y 30 ° C y no son muy tolerantes a la acidez, por lo que requieren un pH neutro para un óptimo crecimiento, aunque crecen en un rango de pH entre 5.0 y 9.0, lo que se puede verificar en el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), que nos dice que la muestra de suelo tiene un pH de 5,88, lo que nos permite determinar que ese suelo es apto para el desarrollo de estos microorganismos.

Según (C. Torres & Reyes, 2014), menciona que en la mayoría de los suelos, el P constituye el 50% -70% del P total, aunque puede variar entre el 10% y el 90%, según el tipo de suelo, lo que se puede verificar en el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**), que nos muestra que tiene un porcentaje de alto de fósforo y que este tipo de suelo puede desarrollar este tipo de bacterias.

Como podemos observar en el (**Gráfico 15**) en los grupos funcionales y colonias en la rizosfera de la papa a 3800 msnm, existe la presencia de todos los grupos funcionales investigados, siendo los que mayor número de colonias presenta en suelo, los actinomicetes, pseudomonas y solubilizadores de fósforo, esto es diferente a lo obtenido en la investigación de (Ortiz, 2021) donde los mismos grupos en suelo a 3400 msnm, presentaron mayor número de colonias. En la muestra de raíz se encontró todos los grupos estudiados, siendo los más representativos los actinomicetes y pseudomonas, los datos obtenidos difieren con la investigación de (Ortiz, 2021) donde los mismos presentan mayor número de colonias y UFC*gr⁻¹ de suelo.

16.5. Promedio general de UFC encontrados en los siete Grupos Funcionales.

Gráfico 16. Promedio general de UFC.



Elaborado por: Chiquimba, 2021.

Como se observa en el (**Gráfico 16**), encontramos $5,61 \cdot 10^{12}$ conidios* gr^{-1} en suelo de bacterias solubilizadoras de fósforo en el tercer grupo funcional, $5,33 \cdot 10^{12}$ conidios* gr^{-1} en suelo de actinomicetes en el quinto grupo funcional y $4,70 \cdot 10^{12}$ conidios* gr^{-1} en suelo de pseudomonas en el séptimo grupo funcional, esto quiere decir que existe una gran presencia de estos microorganismos. A su vez el séptimo grupo funcional $5,25 \cdot 10^{12}$ conidios* gr^{-1} en raíz de pseudomonas también se encontró presencias de los mismo.

El desarrollo de bacterias solubilizadoras de fósforo en los medios de cultivo se presentó favorable en las condiciones en las cuales fueron expuestos en el laboratorio ya que las muestras fueron tomadas del suelo cercano a la rizosfera la cual tiene mayor presencia de microorganismos como se muestra en el Análisis Microelemental del INIAP (**Anexo 30**) y lo expresado por (Sanclemente & Patiño, 2014) que nos dicen que es uno de los nutrientes necesarios para los cultivos ya que el 98% de los suelos tiene una inadecuada presencia de P, ya que esta condición induce deficiencias en distintos grados de severidad.

La presencia de actinomicetes nos indica que existe una gran cantidad de estos microorganismos, así como expresa el (Area de Edafología y Química Agrícola, 2021) donde nos dice que los actinomicetes son numerosos y están distribuidos no solamente en el suelo, sino que también están contenido en abonos ya que generalmente prefieren los medios alcalino, esto nos quiere decir que a pesar de que le medio de cultivo fue realizado a un pH de 7.1 estos microorganismos pueden desarrollarse sin ningún problema debido a que contienen los nutrientes necesarios en el suelo para su respectivo desarrollo.

La presencia de pseudomonas tanto en muestras de suelo como en raíz, nos indica que el cultivo se desarrolló de una buena manera, así lo expresa (Nieto, 2016) que nos dice que las Pseudomonas actúan de una doble manera, la primera promueven el crecimiento vegetal y la segunda suprimen a los microorganismos patógenos. Además, la supresión de enfermedades parece estar relacionadas con la secreción de metabolitos antimicrobianos, la competencia por el hierro y la mayor facilidad para colonizar la rizosfera.

Como podemos observar en el (**Gráfico 16**) en los grupos funcionales y colonias en la rizosfera de la papa a 3800 msnm, existe la presencia de todos los grupos funcionales investigados, siendo los que mayor número de UFC presenta en suelo son las bacterias solubilizadoras de fósforo, actinomicetes y pseudomonas, en donde esto es diferente a lo obtenido en la investigación de (Ortiz, 2021) donde los mismos grupos en suelo a 3400 msnm, presentaron un menor número de colonias. En la muestra de raíz se encontró todos los grupos estudiados, siendo los más representativos las pseudomonas y población total de bacterias, donde los datos obtenidos difieren con la investigación de (Ortiz, 2021) donde los mismos presentan mayor número de UFC*gr⁻¹ de suelo.

17. CONCLUSIONES

- En el piso altitudinal de 3800 msnm en el cultivo de papa var. Leona Blanca se identificó como las familias más representativas Enterobacteriaceae con 75,596 lecturas acumulativas, seguida de la familia Xanthomonadaceae con 7,042 lecturas acumulativas.
- Los géneros más representativos son Raoultella y Rhodanobacter con 4,468 y 3,146 lecturas acumulativas respectivamente.
- Las especies más representativas son Raoultella ornithinolytica con 4,09 lecturas acumulativas, seguida de Gemmatimonas phototrophica con 1,803 lecturas acumulativas.
- Los grupos funcionales de mayor presencia en la rizosfera asociada al cultivo de la papa antes descritos fueron bacterias solubilizadoras de fósforo con $5,61 \cdot 10^{12}$ UFC*gr⁻¹ seguido de actinomicetes con $5,33 \cdot 10^{12}$ UFC*gr⁻¹ y pseudomonas con $4,70 \cdot 10^{12}$ UFC*gr⁻¹.
- Se determinó que los grupos funcionales de mayor presencia están dentro de las familias con mayor lecturas acumulativas.

18. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar la misma metodología de investigación en pisos altitudinales bajos de 2500 – 3000 y así tener una visión general de todos estos parámetros en toda la comunidad productiva de la papa.

- Se recomienda identificar consorcios bacterianos en el área foliar del cultivo de papa, para determinar las relaciones entre estos componentes.

19. BIBLIOGRAFÍA

- Agropecuaria, Á., Recursos, L., Renovables, N., & Álvarez Rodríguez, T. X. (2015). Universidad Nacional de Loja "CARACTERIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS RIZOSFERICAS Y SU EFECTO EN Tesis previa a la obtención del Título de Ingeniero Agrónomo AUTOR. 17–85.
- Andrea Viteri Florez, P., & Arturo Castillo Guerra Silvio Edgar Viteri Rosero, D. (2016). Capability and diversity of Cellulolytic bacteria isolated from three tropical habitats in Boyaca, Colombia. *Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos / Biodiversity and Ecosystem Services Acta Agron*, 65(4), 362–367. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n4.50181>
- Area de Edafología y Química Agrícola. (2021, March 6). Microorganismos. Actinomicetos. <https://www.eweb.unex.es/eweb/edafo/ECAP/ECAL6MActinomicetos.htm>
- Auxiliadora, M., Perdomo, W., & Briceño, E. (2009, December). Micobiota y nematodos asociados con la rizósfera y raíz en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.). http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612009000300010
- Avellaneda-torres, L. M. (2012). Actividades Enzimáticas en Consorcios Bacterianos de Suelos Bajo Cultivo de Papa con Manejo Convencional y Bajo Pastizal Enzyme Activities in Bacterial Consortium Isolated from Soils with Potato Crop under Conventional Management and under Grassland. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 65(1), 6349–6360.
- Baez, F., Perdomo, C., Pincay, A., Tello, C., Villamizar, L., Jackson, T., Jaronski, S., & Viera, W. (2019). Manual de análisis de calidad para formulaciones con base en hongos biocontroladores (p. 15).
- Beltrán Pineda, M. E. (2015). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 101. https://doi.org/10.21930/rcta.vol15_num1_art:401
- Beltrán Pineda, M. E., & Lizarazo-Forero, L. M. (2014). Grupos Funcionales de Microorganismos en Suelos de Páramo Perturbados por Incendios Forestales. *Revista de Ciencias*, 17(2), 121–136. <https://doi.org/10.25100/rc.v17i2.490>
- Beltrán Pineda, M. E., Rocha Gil, Z. E., Bernal Figueroa, A. A., & Pita Morales, L. A. (2017). Microorganismos funcionales en suelos con y sin revegetalización en el municipio de Villa de Leyva, Boyacá. *Colombia Forestal*, 20(2), 158–170. <https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2017.2.a05>
- Bogotá, D. C. (2010). LOS ACTINOMICETOS: UNA VISIÓN COMO PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL YESMY TATIANA GONZÁLEZ JIMÉNEZ Trabajo de Grado Presentado como requisito para optar al Título de MICROBIÓLOGA AGRÍCOLA Y VETERINARIA PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA DE MICROBIOLOGÍA AGRÍCOLA Y VETERINARIA. 11–37.
- Bolaños A. (2015). Evaluación de diferentes orígenes de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) provenientes de tres sistemas de producción en dos localidades de la sierra ecuatoriana.

Universidad Central Del Ecuador.

- Calvo Vélez, P., Reymundo Meneses, L., & Zúñiga Dávila, D. (2008a). ESTUDIO DE LAS POBLACIONES MICROBIANAS DE LA RIZÓSFERA DEL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum*) EN ZONAS ALTOANDINAS. *Ecología Aplicada*, 7(1–2), 141. <https://doi.org/10.21704/rea.v7i1-2.369>
- Calvo Vélez, P., Reymundo Meneses, L., & Zúñiga Dávila, D. (2008b). A STUDY OF POTATO (*Solanum tuberosum*) CROP RHIZOSPHERE MICROBIAL POPULATION IN HIGHLAND ZONES. *Ecología Aplicada*, 7(1), 1–8.
- Calvo Vélez, P., Reymundo Meneses, L., & Zúñiga Dávila, D. (2008c). A STUDY OF POTATO (*Solanum tuberosum*) CROP RHIZOSPHERE MICROBIAL POPULATION IN HIGHLAND ZONES. *Ecología Aplicada*, 7(1), 2–8.
- Carrasco, P. N. (2016). *Pseudomonas*, Microorganismos De Biocontrol En Agricultura. In *Control Bío* (p. 1).
- Cazorla, F. (2000). *Pseudomonas* por los suelos: biocontrol en la rizosfera. In *Encuentros en la Biología* (Issue 61, p. 1).
- Chan-Cupul, W., Juárez-González, M., Ruiz-Sánchez, E., Carlos Sánchez-Rangel, J., Molina-Ochoa, J., & Galindo-Velasco, E. (2018). SOLUBILIZACIÓN DE FUENTES INORGÁNICAS DE FÓSFORO POR MICROMICETOS AISLADOS DE LA RIZOSFERA DE PAPAYA VAR. MARADOL (*Carica papaya* L.) Y SU SUSCEPTIBILIDAD A HERBICIDAS CONVENCIONALES. *Rev. Int. Contam. Ambie*, 34(2), 281–295. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.02.09>
- De TomateRodríguez Limach, P., & Julia, V. (n.d.). Efecto Antagónico Y Biocontrolador De Algunos Microorganismos Saprofíticos Contra *Rhizoctonia Solani* Un Fitopatogeno Causante Del (Damping Off) En.
- El Telégrafo. (2019). Papa, un alimento milenario que no pasa de moda. In *El Telégrafo*.
- Elías, J., & Arroyo, J. (2018). Efecto de la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal en plantas de maíz (*Zea mays* L.). *Revista Agronómica Del Noroeste Argentino*, 38(1), 33–38.
- FAO. (2006). Departamento de Agricultura, Bioseguridad, Nutrición y Protección del Consumidor Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación Tesoro enterrado: la papa. 1–2. <http://www.fao.org/ag/esp>
- Fernández-Travieso, J. C. (2016). *Revista CENIC. Ciencias biológicas. Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 41(3), 185–188.
- Ferrera, R., & Alarcón, A. (2001). The Microbial Activity in the Agroecosystem. *Ciencia Ergo Sum*, 8(2), 175–183.
- Florez, P. A. V., Guerra, D. A. C., & Rosero, S. E. V. (2016). Capacidad y diversidad de bacterias celulolíticas aisladas de tres hábitats tropicales en Boyacá, Colombia. *Acta Agronomica*, 65(4), 2–7. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n4.50181>

- Franco-Correa, M. (2010). Utilización de los actinomicetos en procesos de biofertilización Use of actinomycetes in processes biofertilization. 1–4. <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/biologia/biologiaNEW.htm>
- Franco-Correa, M. (2011). Utilización de los actinomicetos en procesos de biofertilización. *Revista Peruana de Biología*, 16(2), 239–242. <https://doi.org/10.15381/rpb.v16i2.213>
- Gaitán, D. M., & Perez, L. I. (2007). Aislamiento y evaluación de microorganismos celulolíticos a partir de residuos vegetales frescos y en compost generados en un cultivo de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). 2–18.
- García, S. C. (2011). Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. *Ct*, 3, 173–186.
- Guevara, B. L., Escuela, L., Panamericana, A., & Honduras, Z. (2017). Aislamiento y caracterización morfológica de cepas nativas de actinomicetos y su actividad antagónica contra *Ralstonia solanacearum*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp.
- Herrera, L. (2015, July). Microorganismos productores de enzimas hidrolíticas provenientes del oligoqueto antártico, *Grania* sp. <http://www.iau.gub.uy/wp-content/uploads/2018/11/Herrera-2015.pdf>
- Higuera, M. (2019). Los microorganismos del suelo en la nutrición vegetal. | Orius Biotech | Soluciones para la producción agropecuaria sostenible. https://www.oriusbiotech.com/escrito?nom=Los_microorganismos_del_suelo_en_la_nutrici%03n_vegetal.
- Huallpa Aro, R. (2018). Universidad Nacional Del Altiplano Tesis. Factores Que Influyen En El Inicio De Relaciones Sexuales En Los Adolescentes De La Institución Educativa Secundaria Independencia Nacional Puno, 2017, 113.
- Ideagro. (2011). Bacterias fijadoras de nitrógeno en agricultura, alternativa al uso de fertilización nitrogenada inorgánica | Ideagro. <https://ideagro.es/bacterias-fijadoras-de-nitrogeno-en-agricultura-alternativa-al-uso-de-fertilizacion-nitrogenada-inorganica/>
- Lara Mantilla, C., Villalba Anaya, M., Eliécer, L., & Zumaqué, O. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia Non-symbiotic bacterial diazotrophs from of agricultural crops of San Carlos. Córdoba, Colombia. *Rev. Colomb. Biotecnol*, Diciembre, 6–14.
- Loredo, O. C., López, R. L., & Espinosa, V. D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: una revisión. *Plant Growth-Promoting Bacteria in Association with Graminaceous Species: A Review. TERRA Latinoamericana*, 22(2), 225–239.
- Mantilla, C. L., Anaya, M. V., & Zumaqué, L. E. O. (2008). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 9(2), 6–14.
- Memoria que para optar al Grado de Doctor en Ciencias Biológicas presenta D . Jose Manuel Pozuelo González V ~ Bc ~ El Dr . D . Francisco Bermúdez de Castro y Naya. (1991).

- Naturales, R. (2017). Universidad tecnológica equinoccial.
- Nieto, P. (2016, October 26). Pseudomonas, microorganismos de biocontrol en agricultura - Blog Control Bío. https://controlbio.es/es/blog/c/92_pseudomonas-microorganismos-de-biocontrol-en-agricultura.html
- Nuria Bonilla. (2012). Organic amendments and land management affect bacterial community composition,. Diversity and Biomass in Avocado Crop Soils. Plant and Soil.
- Ortiz, M. (2021). “IDENTIFICACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), var. LEONA BLANCA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3400 msnm. COTOPAXI, 2021.” 1, 100.
- Pacasa, F., Loza, M., Bonifacio, A., Vino, L., & Serrano, T. (2017). Comunidad de hongos filamentosos en suelos del Agroecosistema de K'iphak'iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha. 8(1).
- Pereira, G., Herrera, J., Machuca, A., Sánchez, M., & De, A. (2007). Efecto del pH sobre hongos ectomicorrícicos. BOSQUE, 28(3), 215–219.
- Pérez Álvarez, S., Coto, O., Ii, A., Echemendía, M., Iii, P., Ávila, G., & Iv, Q. (2015). *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿control biológico o patógeno? Rev. Protección Veg, 30(3), 225–234.
- Pozuelo, J. (1991). Estudio de grupos funcionales de microorganismos edáficos en la rizosfera de *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. Facultad de Ciencias Biológicas/Universidad Complutense. Madrid, España.
- Reuter, C. (n.d.). Biorremediación de los suelos, un llamado de atención en la industria de los hidrocarburos. In Amerex.
- Reuter, C. (2015). AMEREX - Biorremediación de los suelos, un llamado de atención en la industria de los hidrocarburos. <http://www.labamerex.com/novedad027.htm>
- Rodríguez-Sahagún, A., Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O., Acevedo-Hernández, G., & Clarenc Aarland, R. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. Revista Terra Latinoamericana, 38(2), 333–345. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>
- Sanclemente, O., & Patiño, C. (2014). Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. 288–298.
- Sevilla, J. G. (2015). La importancia de la atención. 1–8.
- SMART, F. (2020, February). El fósforo en suelo y agua - Smart Fertilizer. <https://www.smart-fertilizer.com/es/articulos/phosphorus/>
- Torres, C., & Reyes, O. (2014). Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. 10(2), 1–10.
- Torres, M., & Lizarazo, M. (2006). Evaluación de grupos funcionales (ciclo del C, N, P) y

actividad de las fosfatasa acida en dos suelos agricolas del departamento de Boyaca (Colombia). 24(2), 1–9.

UpoTV - Conteo de bacterias viables. (n.d.).

Viera, W., & Bernal, G. (2005). INIAP -Estación Experimental Santa Catalina. 10. <http://181.112.143.123/bitstream/41000/2827/1/iniapsc322est.pdf>

20. ANEXOS

Anexo 1. Medio de cultivo específico para Población Total de Bacterias.

GRUPO FUNCIONAL Y MEDIO UTILIZADO	DOSIS
<p style="text-align: center;"><u>POBLACIÓN TOTAL DE BACTERIAS</u></p> <p>AGAR NUTRITIVO</p> <ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada • Agar nutritivo • Ph 	<ul style="list-style-type: none"> • 1000 ml • 20 g/l • 7.0
<p>PROCEDIMIENTO:</p> <p>En un frasco con tapa se coloca 1000 ml de agua destilada y se pesan 20 g de agar nutritivo. Se lo lleva a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizándolo en 7.0 con el uso de ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio 1N. Se lo esteriliza en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.</p>	

Anexo 2. Medio de cultivo específico para Población Total de Hongos.

<ul style="list-style-type: none"> • <u>POBLACIÓN TOTAL DE HONGOS</u> • AGAR ROSA DE BENGALA • D – Glucosa • Peptona micológica • Fosfato monopotásico • Sulfato de magnesio hidratado 	<ul style="list-style-type: none"> • 10 g/l • 5 g/l • 1 g/l • 0.5 g/l
---	---

<ul style="list-style-type: none"> • Rosa de bengala • Estreptomicina • Agar • Agua destilada • pH 	<ul style="list-style-type: none"> • 0.035 g /l • 30 mg/l • 15 g/l • 1000 ml • 5.5
<p>PROCEDIMIENTO:</p> <p>En un recipiente con tapa se coloca 1000 ml de agua destilada en la que se va colocando todos los reactivos en las cantidades establecidas, excepto la estreptomicina. Se lo lleva a un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizándolo en 5.5 con el uso de ácido clorhídrico diluido o hidróxido de sodio en solución. Se lo esteriliza en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.</p> <p>Luego, la estreptomicina se diluye en 10 ml de agua y se la añade antes de dispensar el medio en las respectivas cajas, con la ayuda de una jeringuilla y un filtro. La estreptomicina inhibe el desarrollo y crecimiento de bacterias, permitiendo que solo los hongos aparezcan.</p>	

Anexo 3. Medio de cultivo específico para Bacterias Solubilizadoras de Fósforo.

<ul style="list-style-type: none"> • <u>BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO</u> • AGAR RAMOS CALLAO • Extracto de levadura • Glucosa • Fosfato tricálcico • Agua destilada • Agar • pH 	<ul style="list-style-type: none"> • 2 g/l • 20 g/l • 2 g/l • 1000 ml • 22 g/l • 7
<p>PROCEDIMIENTO:</p> <p>En un recipiente con tapa se coloca 1000 ml de agua destilada en la que se va colocando el extracto de levadura, la glucosa y el fosfato tricálcico, en las cantidades indicadas. Se lo lleva a</p>	

un agitador, hasta que la mezcla sea algo homogénea, a la vez que se mide el pH, estabilizándolo en 7.0 con el uso de ácido clorhídrico 1N o hidróxido de sodio 1 N, se añade el agar y luego se lo esteriliza en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.

Anexo 4. Medio de cultivo específico para Bacterias Celulolíticas.

<u>BACTERIAS CELULOLÍTICAS</u>	
AGAR EXTRACTO DE SUELO	
<ul style="list-style-type: none"> • Fosfato dibásico de potasio (PO_4HK_2) • Nitrato de amonio (NO_3NH_4) • Carboximetilcelulosa • Agar • Extracto de suelo • pH 	<ul style="list-style-type: none"> • 0.5 g/l • 0.15 g/l • 1.25 g/l • 20 g/l • 100 ml • 6.5
PROCEDIMIENTO:	
<p>En un recipiente con tapa se coloca 850 ml de agua destilada en la que se va colocando el fosfato dibásico de potasio y el nitrato de amonio en las cantidades indicadas. Los 850 ml van en función de los restantes volúmenes que se van a utilizar (carboximetilcelulosa y extracto de suelo).</p> <p>La carboximetilcelulosa se diluye en 50 ml de agua destilada, con la ayuda de un agitador y se lo coloca al calor y una vez que ha sido diluida se lo pone al medio final.</p> <p>El extracto de suelo se lo obtiene mediante la recolección de tierra de jardín rica en humus. Se limpia la hojarasca o impurezas de la superficie, se toma aproximadamente 1 kilogramo de suelo el mismo que se tamiza a una malla menor a 2 mm, hasta obtener una muestra de 500 gramos. Luego en 1000 ml de agua corriente se coloca el suelo y se agita bien. Se esteriliza en erlenmeyer amplio en la autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión. Se lo retira y se deja decantar lo suficiente para luego filtrarlo a través de papel Whatman (papel filtro) en una bomba de vacío por lo menos dos veces. El filtrado es llevado a la centrífuga, a 3600 rpm, por 20 minutos. De</p>	

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

Anexo 5. Medio de cultivo específico para Actinomicetes.

<u>ACTINOMICETES</u>	
AGAR CASEÍNA	
<ul style="list-style-type: none"> • Almidón soluble • Caseína • KH₂ PO₄ • Agar • pH 	<ul style="list-style-type: none"> • 10 g • 1 g • 0.5 g • 10 g • 7.1
PROCEDIMIENTO:	
<p>En un recipiente con tapa se coloca 950 ml de agua destilada, se coloca la caseína, el fosfato monopotásico. El almidón debe ser diluido a parte al calor en 50 ml de agua destilada hasta que esté transparente, sin llegar a ebullición, entonces se lo pasa a la formulación final. Se lo lleva a la agitadora, se estabiliza el pH en 7.0, y se coloca el agar, para luego esterilizar en el autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión.</p>	

Anexo 6. Medio de cultivo específico para Bacterias Fijadoras de Nitrógeno.

<u>BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO</u>	
<p>WATANABE</p> <ul style="list-style-type: none"> • Glucosa • Manitol • Almidón • Ácido málico • Agar • pH • Solución II • Solución III • Bromotimol azul al 1% en etanol • Agua destilada 	<ul style="list-style-type: none"> • 5 g/l • 5 g/l • 4.5 g/l • 3.5 g/l • 1.75 g/l • 6.8 – 7.2 • 50 ml • 15 ml • 2 ml • Aforar a 1000 ml
<p>SOLUCIÓN I</p> <ul style="list-style-type: none"> • H_3BO_3 • $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ • $CoSO_4 \cdot 7H_2O$ • $CuSO_4 \cdot 4H_2O$ • $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ • Agua destilada 	<ul style="list-style-type: none"> • 750 mg/l • 550 mg/l • 350 mg/l • 21.8 mg/l • 20 mg/l • 1000 ml

<p>SOLUCIÓN II</p> <ul style="list-style-type: none"> • $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ • $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ • $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ • $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ • EDTA ácido • Solución I • Agua destilada 	<ul style="list-style-type: none"> • 0.8 g/l • 4.0 g/l • 0.1180 g/l • 4 g/l • 0.8 g/l • 4 ml/l • 1000 ml
<p>SOLUCIÓN III</p> <ul style="list-style-type: none"> • KH_2PO_4 • K_2HPO_4 • Agua destilada 	<ul style="list-style-type: none"> • 40 g/l • 60 g/l • 1000 ml
<p>PROCEDIMIENTO:</p> <p>Para preparar 1000 ml de medio watanabe se mide 500 ml de agua destilada en una botella con tapa rosca, se coloca la glucosa, el manitol y el ácido málico. El almidón se diluye al calor en 50 ml de agua destilada, una vez bien diluido se lo añade al medio, tomando en cuenta todos los volúmenes agregados. Se añade las soluciones II y III (tomando los reactivos en las cantidades indicadas) se toman los volúmenes especificados y se añade al medio de cultivo.</p> <p>El bromotimol azul al 1% en etanol se prepara pesando 1 g de este reactivo y diluyendo en 100 ml de etanol; de lo cual se toma 2 ml en 1000 ml de medio, con la ayuda de una pipeta.</p> <p>Se suman los volúmenes indicados y se descuentan para saber la cantidad faltante para completar 1000 ml. Se nivela el pH entre 6.8 y 7.2 y se coloca el agar.</p>	

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

Anexo 7. Medio de cultivo específico para Pseudomonas.

PSEUDOMONAS

B de King

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

- Peptona 20
- Agar purificado 12
- K₂HPO₄ (anhidro) 1,5
- MgSO₄. 7 H₂O (anhidro)) 1,5
- Solubizan

Elaborado: Chasi, Cruz, Chiquimba, Nasimba & Ortiz, 2021.

Anexo 8. Análisis Genómico del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE).

espol Escuela Superior
Politécnica del Litoral

Guayaquil - Ecuador
Campus Gustavo Galindo Velasco - Km. 30.5 Vía Perimetral - Pbx: (593-4) 2269 269

Guayaquil, 19 de julio de 2021
OFICIO CIBE-0060-2021

Señor
Wilman Paolo Chasi Vizuete
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
Ciudad.-

De mi consideración:

En atención a lo solicitado mediante Propuesta Técnico-Económica de Servicios Especializados No. FT-010-2021, anexo al presente, reporte de laboratorio, de acuerdo al siguiente detalle:

Nombre del servicio:	Identificación bacteriana a través de la secuenciación del gen 16s. (Suelo rizosférico)
Método de análisis:	Secuenciación en nanoporos con dispositivo MinION.
Laboratorio encargado:	Fitopatología y Microbiología

Agradecemos su confianza y esperamos poderle servir en un futuro cercano.

Atentamente,

JUAN
MANUEL
CEVALLOS
CEVALLOS
Firmado digitalmente
por JUAN MANUEL
CEVALLOS CEVALLOS
Fecha: 2021.07.19
11:54:40 -05'00'

Juan Manuel Cevallos, PhD.
Director General
Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
Escuela Superior Politécnica del Litoral

espol
Escuela Superior
Politécnica del Litoral
**Centro de
Investigaciones
Biotecnológicas
del Ecuador**

Adj: Reporte de laboratorio
Cc: Archivo

Elaborado por:	Reina Nalivos Morán
----------------	---------------------

www.espol.edu.ec

 espol

 @espol

 @espol

 @espol1



N° de propuesta: FT-010-2021

FECHA: 4 de julio del 2021

REPORTE DE LABORATORIO

Identificación del Cliente	
Nombre del solicitante: Wilman Paolo Chasi Vizquete	
RUC: 0502409725	Empresa: Universidad Técnica de Cotopaxi
Teléfono: 0984203033	e-mail: wilman.chasi@utc.edu.ec
Dirección: Latacunga	

Detalles de la muestra analizada	
<p>Nombre:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Muestra 1: Suelo cultivo papa, 3800 msnm, Prov. Cotopaxi. Cantón Pujilí, Sector Cuturivi. - Muestra 2: Suelo cultivo papa, 3400 msnm, Prov. Cotopaxi. Cantón Pujilí, Sector Cuturivi. 	<p>Tipo de muestra: Suelo rizosférico</p>
<p>Número de muestras: 2</p>	<p>Empaque: Bolsa ziploc plástica</p>
<p>Fecha de recepción: 14/06/2021</p>	<p>Fecha de pruebas: 21/06/2021 al 04/07/2021</p>
<p>Análisis: Identificación bacteriana a través de la secuenciación del gen 16s.</p> <p>Asignación de códigos de barra para la secuenciación:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Barcode 01 (A05): ADN obtenido de muestra de suelo 1. - Barcode 02 (B05): ADN obtenido de muestra de suelo 2. - Barcode 03 (C05): Control negativo (agua) <p>Flujo de trabajo experimental:</p>	<p>Método: Secuenciación en nanoporos con dispositivo MinION.</p>

1. Amplificación de los genes 16s de cada muestra y preparación de librerías de ADN para secuenciar en el MinION Mk1B utilizando el kit de código de barras 16s 1-24 (SQK-16S024).
2. Secuenciación de librerías 16s en el MinION de Oxford Nanopore y posterior basecalling en MinKNOW.
3. Análisis de las lecturas resultantes en el flujo bioinformático online 16S en EPI2ME.

RESULTADOS

1. Control de calidad e identificación:

Figuras claves

LECTURAS ANALIZADAS 187,794	RENDIMIENTO TOTAL 296,2 Mbases
PUNTUACIÓN DE CALIDAD PROMEDIO 13.26	LONGITUD DE SECUENCIA PROMEDIO 1,577

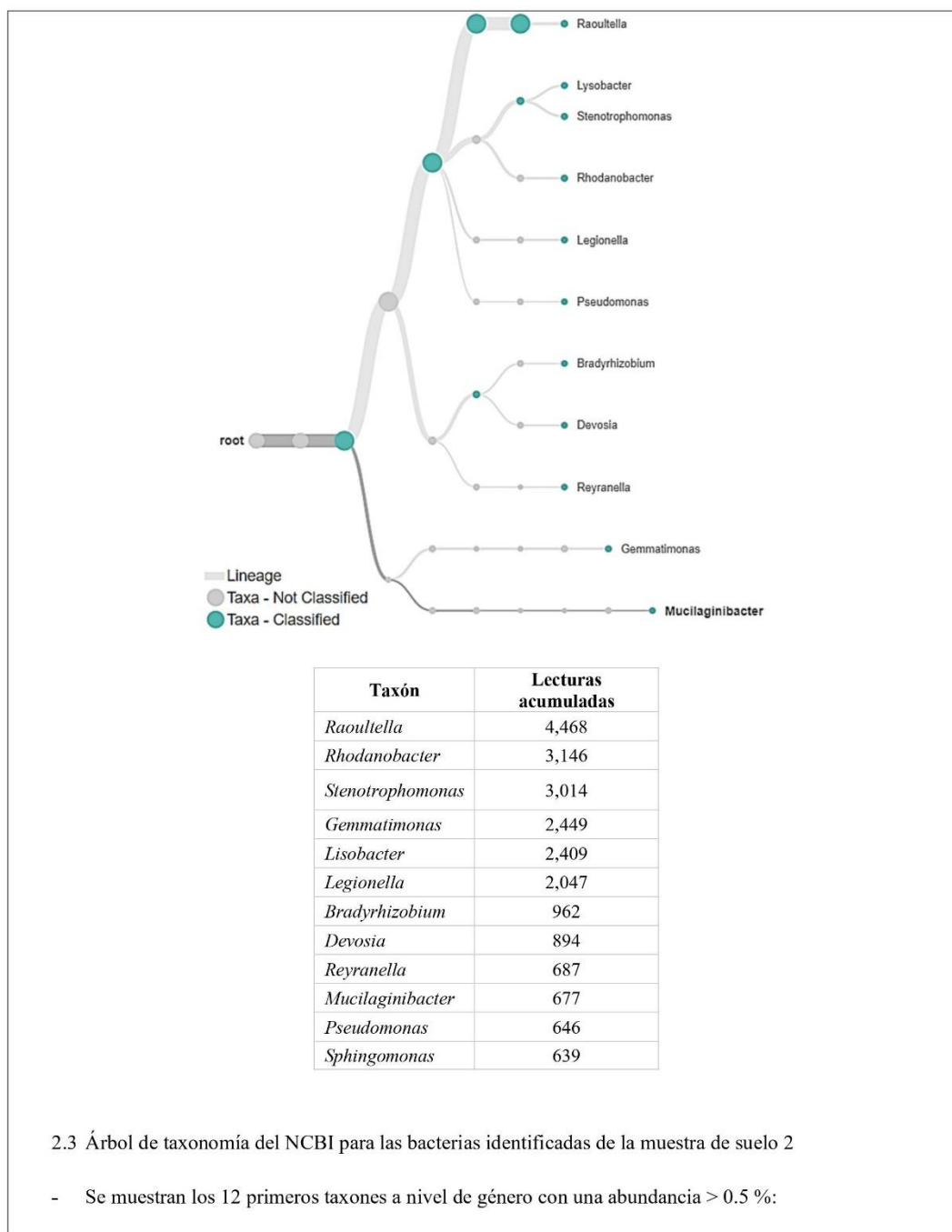
Reads per Barcode ID

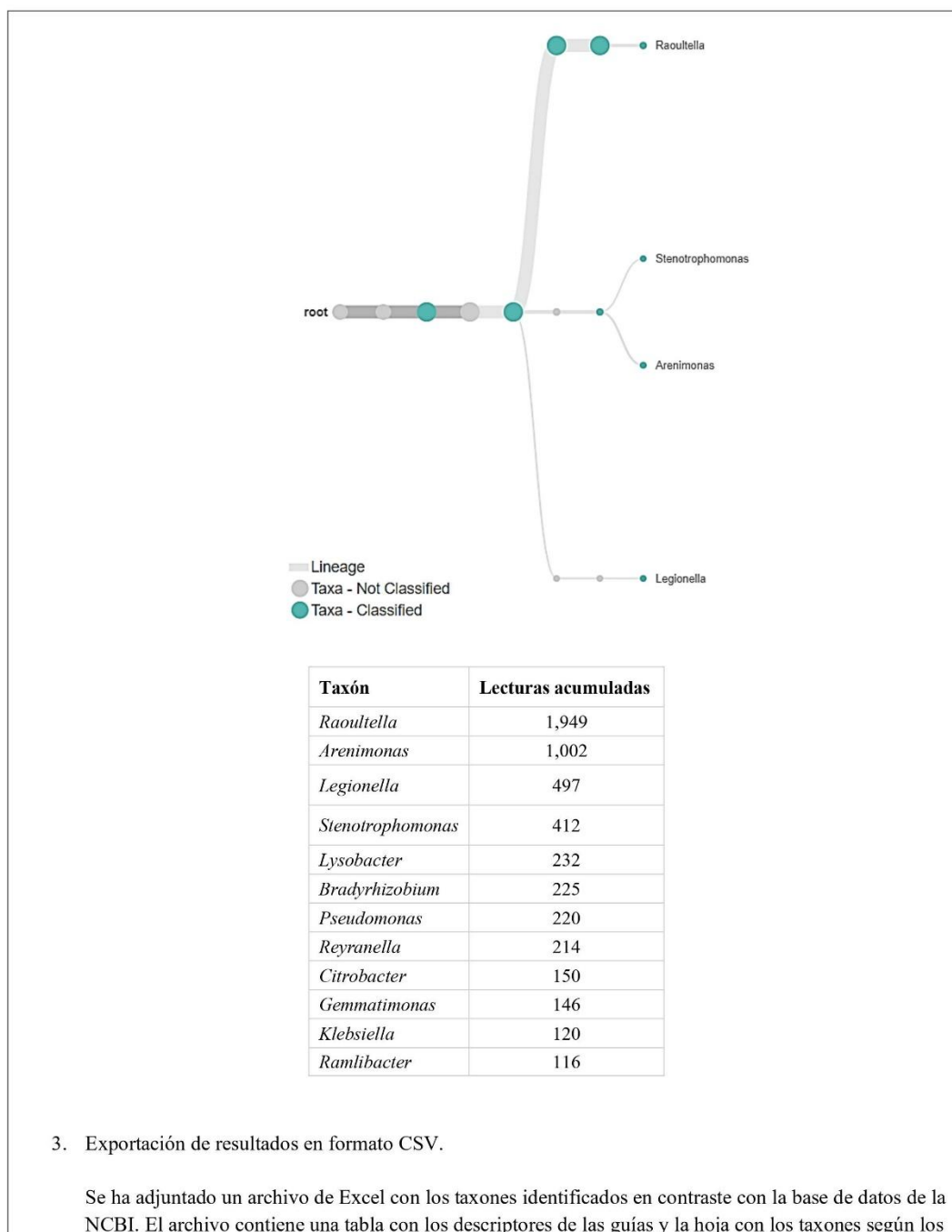
ID	Read Count	EXCLUDE ALL
barcode01	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: #008080;"></div> 133,534	EXCLUDE
barcode02	<div style="width: 40%; height: 10px; background-color: #008080;"></div> 54,260	EXCLUDE

Reads per Run ID

d67e6370c6d5f7574bdaf252d9f... 187,794







códigos de barra, 01 y 02.

NOTA: El enlace puede borrarse en 10 días. Por favor bajar toda la información antes de esta fecha.

Comentarios:

1. Para la configuración del análisis 16s en EPI2ME se configuró:
 - El puntaje de calidad de las lecturas para ser consideradas válidas: 7.
 - El valor E de BLAST, definida en 0.01.
 - Cobertura mínima requerida de la secuencia para que el enlace se considere una coincidencia: 30.
 - P_ident BLAST mínimo requerido para que el enlace se considere una coincidencia: 77
 - Número máximo de hits por secuencia: 3
2. Referencia al número total de lecturas analizadas y su clasificación:
 - Lecturas clasificadas: es el número de lecturas para las que hay un taxid disponible ("Clasificación exitosa")
 - Lecturas sin clasificar: es el número de lecturas para las que no hay ningún resultado BLAST disponible ("Sin clasificación") o el resultado no cumple los criterios establecidos al principio ("Clasificación por debajo del umbral de control de calidad").
3. Los árboles de taxonomía del NCBI muestra los taxones clasificados para la muestra, donde el grosor de las ramas del linaje es proporcional al número de lecturas pertenecientes a cada taxón.
4. El código de acceso para la visualización de los resultados
NOTA: El enlace puede borrarse en 10 días. Por favor bajar toda la información antes de esta fecha.
5. Los datos crudos (raw data) y basecalling son accesibles
NOTA: El enlace puede borrarse en 10 días. Por favor bajar toda la información antes de esta fecha.
6. El filo dominante en ambas muestras de suelo fue Proteobacteria. Con una abundancia relativa > 3%, las familias dominantes en la muestra de suelo 01 fueron *Enterobacteriaceae* y *Xanthomonadaceae*. En la muestra de suelo 02, además de estas 2 familias se identificó *Gemmataceae*. El género *Raoultella* se mantuvo como el más abundante en ambas muestras de suelo.



Firmado digitalmente
por BYRON JESUS
DIAZ CARDENAS

Ing. Byron Díaz Cárdenas
Técnico de investigación I
E-mail: byjediaz@espol.edu.ec

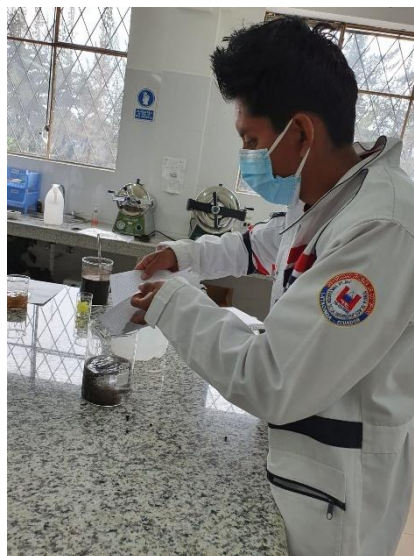
Anexo 9. Recolección de muestras de la rizosfera de la papa.**Anexo 10. Recolección de muestras de suelo para análisis.**

Anexo 11. Preparación de los medios de cultivo específicos para cada grupo funcionales.



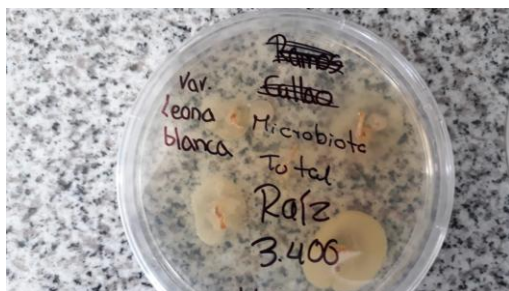
Anexo 12. Soluciones de muestras de suelo y tamización de raices.



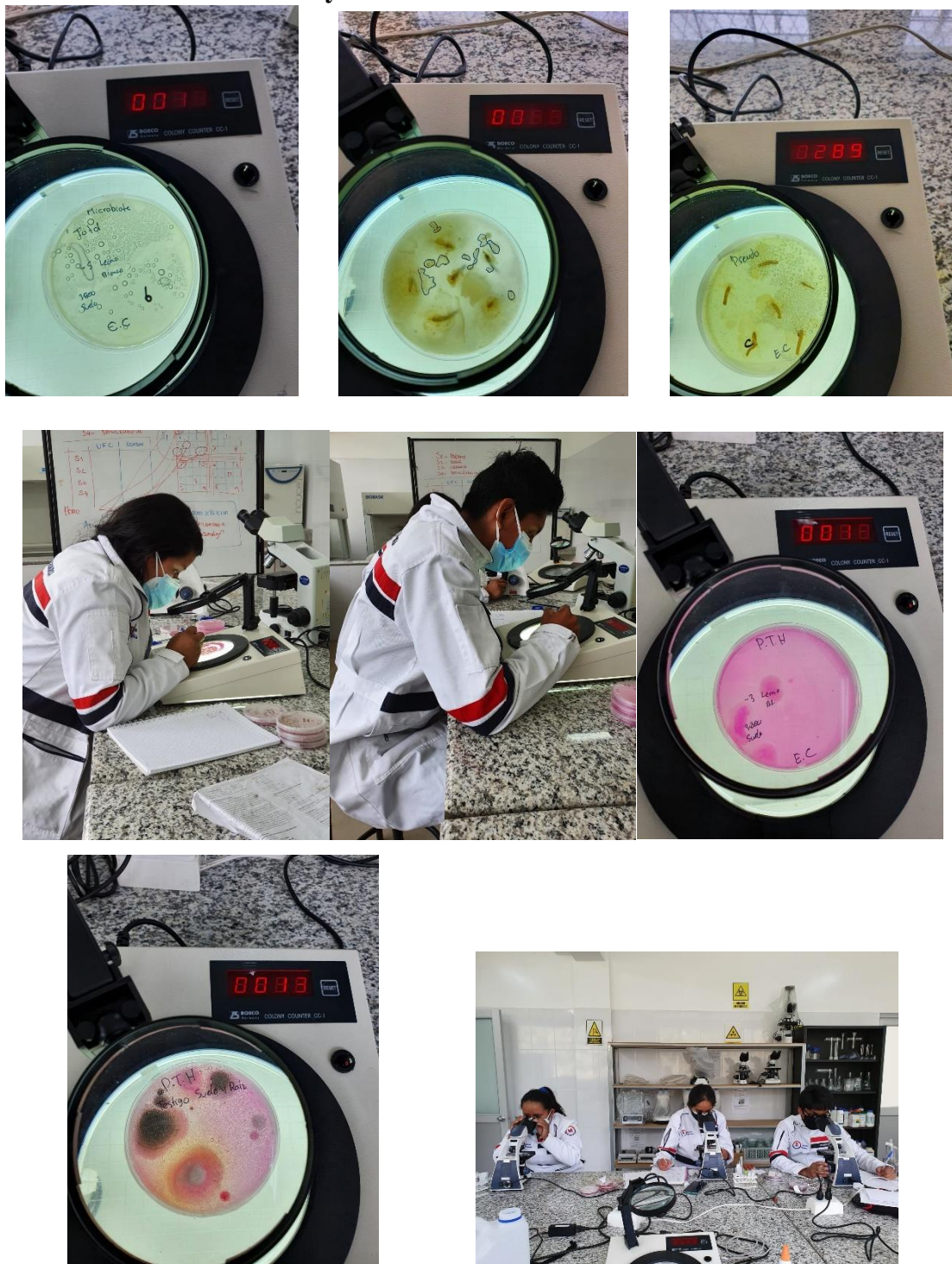


Anexo 13. Reposo en la estufa para el desarrollo de hongos y bacterias.



Anexo 14. Verificación de aparición de hongos y bacterias.

Anexo 15. Conteo de colonia y conidios en la cámara de Neubauer.



Anexo 16. Conteo de conidios, Grupo Funcional Población Total de Hongos (SUELO).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO
N° COLONIAS	13																					
Cuadrante 1	24	27	37	30	23	35	123	89	71	67	53	60	68	46	32	56	50	11	27	29	958	48,5
Cuadrante 2	110	49	52	53	37	15	70	50	35	45	64	47	17	63	32	37	47	77	52	29	981	
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	35																					
Cuadrante 1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	2	1	1	0	0	0	0	2	12	1,4
Cuadrante 2	2	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	6	0	0	0	0	25	0	4	2	44	
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	12																					
Cuadrante 1	8	4	2	7	6	20	15	4	0	3	6	7	9	2	4	1	5	12	11	10	136	6,3
Cuadrante 2	0	2	16	10	7	1	4	8	6	10	12	5	9	7	2	1	4	5	3	3	115	
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	30																					
Cuadrante 1	8	9	6	12	1	7	12	6	9	5	6	7	12	7	5	17	2	0	6	2	139	6,6
Cuadrante 2	4	0	1	12	6	3	1	3	3	8	6	1	1	11	2	7	10	21	18	6	124	
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	18																					
Cuadrante 1	1	0	1	3	4	2	0	0	3	1	0	1	2	4	2	3	1	0	0	2	30	1,9
Cuadrante 2	4	2	1	0	6	1	1	2	4	2	2	1	7	1	0	3	4	0	1	2	44	

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 17. Conteo de conidios, Grupo Funcional Población Total de Hongos (RAIZ).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO
N° COLONIAS	14																					
Cuadrante 1	0	0	0	1	2	1	11	3	1	1	1	0	0	7	1	3	3	4	1	0	40	2,5
Cuadrante 2	0	1	0	0	3	3	0	9	5	6	15	0	4	2	8	0	2	0	0	2	60	
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	62																					
Cuadrante 1	0	0	4	2	3	3	7	5	1	6	1	3	9	4	3	3	8	14	2	3	81	12,08
Cuadrante 2	10	16	28	11	13	11	12	16	28	19	20	26	18	17	21	28	24	35	28	21	402	
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	135																					
Cuadrante 1	0	2	1	0	2	2	1	0	1	1	3	8	29	3	2	18	13	2	17	15	120	6,9
Cuadrante 2	27	11	14	15	21	26	5	2	5	9	2	3	8	0	2	1	0	1	4	1	157	
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	194																					
Cuadrante 1	14	4	0	17	11	3	2	6	3	1	2	5	4	3	4	5	4	3	2	0	93	4,6
Cuadrante 2	13	11	0	5	9	2	11	4	5	2	4	1	2	2	1	5	3	8	3	1	92	
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	104																					
Cuadrante 1	2	0	1	5	10	3	1	12	3	1	3	3	8	6	4	1	2	13	0	2	80	4,3
Cuadrante 2	8	9	4	5	2	2	27	7	7	1	2	0	1	4	2	0	0	4	2	3	90	

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 18. Conteo de conidios, Grupo Funcional Actinomicetes (SUELO).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO
N° COLONIAS	97																					
Cuadrante 1	20	21	11	10	18	28	32	26	27	25	28	30	27	13	32	19	24	28	35	28	482	
Cuadrante 2	37	36	52	45	34	37	59	75	67	30	48	52	99	62	70	48	62	70	38	46	1067	38,7
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	170																					
Cuadrante 1	8	4	4	9	6	12	25	9	21	18	7	13	24	3	17	30	17	31	11	27	296	
Cuadrante 2	42	28	22	33	52	30	28	42	25	15	26	49	52	60	37	33	57	44	35	47	757	26,3
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	161																					
Cuadrante 1	12	17	23	26	14	15	20	16	23	22	17	18	12	25	30	26	24	28	21	21	410	
Cuadrante 2	22	20	52	14	64	34	53	34	19	52	46	25	21	59	47	32	56	48	52	64	814	30,6
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	332																					
Cuadrante 1	10	18	33	42	37	49	37	22	25	28	12	32	15	18	22	24	32	12	27	30	525	
Cuadrante 2	15	32	28	12	42	52	37	62	53	42	53	60	78	63	55	38	43	52	47	34	897	35,6
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	417																					
Cuadrante 1	36	28	24	36	28	20	13	31	24	27	36	16	20	24	10	19	11	29	16	15	463	
Cuadrante 2	31	42	30	48	53	62	47	54	59	75	42	54	49	57	60	28	33	52	39	32	947	35,3

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 19. Conteo de conidios, Grupo Funcional Actinomicetes (RAIZ).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO
N° COLONIAS	78																					
Cuadrante 1	1	6	9	0	3	2	4	4	1	1	0	7	16	11	1	1	0	0	7	1	75	
Cuadrante 2	17	18	7	8	6	7	30	21	47	15	32	28	36	29	36	3	12	23	1	17	393	11,7
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	305																					
Cuadrante 1	0	2	8	19	6	7	2	5	13	0	8	7	12	4	1	2	5	1	16	0	118	
Cuadrante 2	8	12	18	9	12	13	25	18	30	33	28	22	27	31	30	8	6	14	3	14	361	12,0
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	359																					
Cuadrante 1	21	4	25	5	14	16	1	30	17	1	9	10	26	10	5	6	8	14	8	9	239	
Cuadrante 2	19	16	16	5	23	4	36	20	26	27	32	18	36	32	38	7	19	31	4	23	432	16,8
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	271																					
Cuadrante 1	17	10	5	13	8	13	7	17	16	6	7	28	24	15	12	10	16	16	6	9	255	
Cuadrante 2	29	30	18	11	28	9	22	25	24	17	24	15	26	37	41	10	14	25	11	21	437	17,3
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	234																					
Cuadrante 1	22	11	13	12	24	16	6	7	18	6	10	19	25	19	24	10	8	13	14	23	300	
Cuadrante 2	26	22	12	14	25	14	24	27	31	26	27	27	34	35	38	14	20	26	16	23	481	19,5

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 20. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Solubilizadoras de Fósforo (SUELO).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO	
N° COLONIAS	194																						
Cuadrante 1	36	14	67	21	10	23	20	22	16	18	22	76	6	17	13	20	30	11	38	21	501		
Cuadrante 2	16	21	40	8	11	21	16	10	18	13	20	37	21	28	19	22	11	30	12	22	396	22,4	
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	202																						
Cuadrante 1	14	20	28	19	30	33	22	26	40	22	15	21	23	5	11	21	19	14	30	12	425		
Cuadrante 2	16	27	22	28	14	21	27	17	18	6	20	17	16	29	25	20	18	23	22	15	401	20,7	
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	273																						
Cuadrante 1	41	38	48	45	40	61	87	51	24	36	64	78	25	47	36	86	96	60	71	67	1101		
Cuadrante 2	30	37	69	72	57	23	44	37	87	58	68	72	61	75	87	59	77	80	85	78	1256	58,9	
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	98																						
Cuadrante 1	10	15	25	20	19	31	37	40	36	61	47	62	39	56	67	38	27	48	37	35	750		
Cuadrante 2	66	50	47	52	31	42	58	32	54	27	58	61	39	42	60	73	67	31	11	30	931	42,0	
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	170																						
Cuadrante 1	25	32	20	25	9	18	23	17	10	20	13	17	32	27	37	30	47	39	36	50	527		
Cuadrante 2	32	36	27	30	35	38	35	40	28	20	26	35	33	25	20	30	42	52	77	69	730	31,4	

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 21. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Solubilizadoras de Fósforo (RAIZ).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO	
N° COLONIAS	275																						
Cuadrante 1	3	4	3	2	2	1	3	2	4	2	5	3	5	1	3	3	1	5	4	5	61		
Cuadrante 2	3	3	1	3	4	4	3	3	7	4	11	8	5	3	3	8	6	2	0	3	84	3,6	
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	163																						
Cuadrante 1	2	0	2	3	4	1	0	1	5	2	3	3	2	1	4	7	1	4	7	4	56		
Cuadrante 2	5	0	4	4	2	1	3	0	5	0	8	10	4	2	0	5	9	1	2	2	67	3,1	
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	64																						
Cuadrante 1	6	2	8	0	4	3	4	2	5	12	11	5	1	2	3	5	2	4	4	6	89		
Cuadrante 2	16	9	6	15	9	4	5	5	9	8	11	12	8	1	2	7	5	4	1	2	139	5,7	
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	75																						
Cuadrante 1	8	2	6	3	4	32	18	17	21	30	13	27	26	16	15	1	1	2	3	8	253		
Cuadrante 2	8	7	7	12	9	9	11	12	11	7	12	9	12	0	10	11	11	10	12	9	189	11,1	
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	90																						
Cuadrante 1	5	7	8	10	9	5	13	10	8	8	11	19	7	7	6	7	7	10	6	10	173		
Cuadrante 2	7	12	10	7	13	12	11	8	12	13	14	10	10	11	8	13	18	17	15	12	233	10,2	

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 22. Conteo de conidios, Grupo Funcional Pseudomonas (SUELO).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO
N° COLONIAS	625																					
Cuadrante 1	3	2	4	2	3	0	10	6	0	3	4	14	6	2	7	6	4	2	0	2		80
Cuadrante 2	1	5	6	3	1	5	2	7	2	7	5	9	7	5	5	6	14	4	8	5		107
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	547																					
Cuadrante 1	18	21	27	23	30	47	38	52	49	39	36	57	27	63	51	33	36	26	54	37		764
Cuadrante 2	60	48	50	67	47	70	37	41	67	86	72	85	79	87	57	63	89	78	81	99		1363
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	259																					
Cuadrante 1	28	45	37	33	37	28	47	36	41	52	75	67	72	65	38	50	62	75	63	57		1008
Cuadrante 2	45	62	27	56	60	57	62	70	57	70	67	75	86	97	67	84	78	72	86	45		1323
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	239																					
Cuadrante 1	1	0	1	2	3	3	2	0	1	1	1	2	0	0	0	0	0	3	0	1		21
Cuadrante 2	10	7	8	3	4	3	13	7	3	1	2	1	1	1	1	0	0	2	0	0		67
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	205																					
Cuadrante 1	11	26	17	8	14	16	12	25	19	21	30	26	28	32	21	18	28	27	33	34		446
Cuadrante 2	32	44	50	25	30	24	18	28	30	26	25	30	36	32	40	36	46	50	57	33		692

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 23. Conteo de conidios, Grupo Funcional Pseudomonas (RAIZ).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO
N° COLONIAS	104																					
Cuadrante 1	35	27	14	20	16	12	27	15	18	14	24	18	29	28	19	26	12	24	15	21		414
Cuadrante 2	8	35	17	11	18	23	22	57	68	30	76	46	31	82	25	29	87	36	42	62		805
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	93																					
Cuadrante 1	13	32	16	11	22	26	18	8	13	17	8	15	16	18	7	11	10	24	30	36		351
Cuadrante 2	6	24	13	8	16	18	23	28	31	9	23	30	43	67	14	18	35	19	32	48		505
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	289																					
Cuadrante 1	7	4	1	14	8	25	21	2	14	12	2	7	12	5	12	5	10	15	68	21		265
Cuadrante 2	3	13	0	3	2	9	9	36	27	7	4	19	8	6	4	8	30	42	25	17		272
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	111																					
Cuadrante 1	50	77	67	75	83	66	87	54	84	37	48	52	62	75	69	86	48	50	67	58		1295
Cuadrante 2	60	57	82	76	68	55	62	61	72	69	30	28	43	67	79	57	36	45	62	77		1186
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	282																					
Cuadrante 1	15	31	13	30	23	34	27	13	33	21	35	20	26	28	48	21	38	62	68	47		633
Cuadrante 2	20	32	16	21	17	34	42	62	69	25	40	23	42	63	57	30	37	70	67	76		834

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 24. Conteo de conidios, Grupo Funcional Población Total de Bacterias (SUELO).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO
N° COLONIAS	145																					
Cuadrante 1	17	13	19	11	19	13	9	17	21	11	10	21	27	20	21	12	18	20	11	21	331	
Cuadrante 2	22	13	25	7	19	27	32	22	27	35	21	16	27	36	12	17	22	8	27	16	431	19,1
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	45																					
Cuadrante 1	11	6	3	6	11	10	3	5	14	12	15	26	12	5	7	11	6	8	9	8	188	
Cuadrante 2	4	16	8	15	3	5	2	4	5	7	13	12	6	13	4	11	7	9	29	8	181	9,2
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	226																					
Cuadrante 1	7	2	5	8	10	11	2	11	6	13	12	23	15	9	11	10	7	15	12	10	199	
Cuadrante 2	0	8	3	14	2	3	13	10	8	26	7	15	23	20	9	4	32	21	13	27	258	11,4
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	16																					
Cuadrante 1	15	32	26	18	25	13	11	13	22	29	15	26	12	17	10	16	22	28	26	37	413	
Cuadrante 2	4	7	15	24	11	23	10	9	13	11	6	13	15	25	11	15	13	15	13	27	280	17,3
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	78																					
Cuadrante 1	13	23	25	18	17	19	4	18	25	9	18	37	14	16	14	19	14	22	20	19	364	
Cuadrante 2	2	6	12	28	6	4	7	10	15	3	18	14	11	21	29	9	15	9	2	14	235	15,0

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 25. Conteo de conidios, Grupo Funcional Población Total de Bacterias (RAIZ).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO
N° COLONIAS	35																					
Cuadrante 1	13	18	22	12	18	19	8	20	27	18	15	24	22	15	12	18	14	32	21	16	364	
Cuadrante 2	6	15	14	16	10	10	17	14	7	8	6	17	14	24	22	7	23	11	21	13	275	16,0
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	173																					
Cuadrante 1	9	32	18	17	16	21	11	16	24	18	23	12	14	24	32	21	19	30	25	17	399	
Cuadrante 2	3	7	4	18	9	2	7	6	3	4	15	11	17	24	22	15	28	17	7	13	232	15,8
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	193																					
Cuadrante 1	23	32	5	14	16	19	10	21	29	15	20	53	28	23	18	18	9	7	32	18	410	
Cuadrante 2	12	27	25	28	21	34	30	22	37	32	18	20	26	28	35	24	22	25	12	14	492	22,6
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	46																					
Cuadrante 1	25	28	42	18	38	22	21	18	52	36	25	32	41	29	36	27	25	17	21	23	576	
Cuadrante 2	4	17	15	22	27	12	21	18	8	15	12	21	19	10	14	6	13	21	18	25	318	22,4
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	78																					
Cuadrante 1	15	27	32	27	18	20	12	19	21	28	15	42	21	28	17	25	15	23	16	27	448	
Cuadrante 2	5	12	13	21	17	22	19	18	23	12	17	18	15	26	12	18	9	4	12	20	313	19,0

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 26. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Celulolíticas (SUELO).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO	
N° COLONIAS	49																						
Cuadrante 1	5	0	2	6	0	4	2	3	1	2	5	2	3	7	1	2	0	2	10	1		58	
Cuadrante 2	2	4	0	1	3	2	2	3	2	0	4	7	3	2	3	2	10	3	0	5		58	
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	48																						
Cuadrante 1	4	11	3	5	4	5	9	7	6	4	3	6	8	2	4	4	6	5	11	4		111	
Cuadrante 2	6	4	7	5	6	7	8	5	7	3	4	6	7	9	4	8	4	17	8	5		130	
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	70																						
Cuadrante 1	1	0	3	5	2	0	1	0	2	4	0	1	0	2	0	1	0	3	4	1		30	
Cuadrante 2	1	0	2	3	1	0	0	2	1	0	5	1	0	1	1	2	3	1	0	2		26	
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	170																						
Cuadrante 1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	2	0	0	0	1	1	0	1		11	
Cuadrante 2	2	0	4	1	1	1	0	1	0	2	0	1	0	0	0	6	0	1	0	0		20	
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	37																						
Cuadrante 1	1	0	1	3	2	0	0	3	1	4	5	2	8	0	3	0	1	7	2	2		45	
Cuadrante 2	2	1	2	3	1	0	2	5	2	0	0	3	1	3	4	0	0	2	3	2		36	

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 27. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Celulolíticas (RAIZ).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO	
N° COLONIAS	91																						
Cuadrante 1	20	18	22	16	23	7	28	23	0	5	4	9	25	23	10	4	27	15	9	8		296	
Cuadrante 2	8	7	4	13	2	2	7	5	3	7	2	2	6	9	2	1	2	5	1	3		91	
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	59																						
Cuadrante 1	1	0	0	1	0	1	1	2	0	2	3	1	1	10	1	0	4	5	1	1		35	
Cuadrante 2	1	2	0	1	3	5	1	3	6	1	1	1	1	0	4	0	2	3	1	2		38	
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	72																						
Cuadrante 1	1	0	4	2	7	2	1	8	0	4	2	13	3	2	2	2	3	10	8	16		90	
Cuadrante 2	4	6	3	19	6	3	9	5	13	5	6	4	12	18	7	23	20	25	18	13		219	
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	191																						
Cuadrante 1	0	1	2	0	1	1	3	2	2	6	4	3	1	1	3	1	1	3	2	1		38	
Cuadrante 2	0	5	2	3	4	8	3	7	5	6	2	5	3	3	4	1	1	4	0	4		70	
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
N° COLONIAS	45																						
Cuadrante 1	1	2	2	2	1	1	1	2	1	2	1	3	2	0	1	1	2	2	1	0		28	
Cuadrante 2	1	1	11	0	0	1	0	1	3	0	1	0	2	1	2	1	2	1	1	1		30	

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 28. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (SUELO).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO
N° COLONIAS	63																					
Cuadrante 1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	2	0	1	3	2	0	1	0	1	1	0		16
Cuadrante 2	0	0	0	3	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1		14
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	51																					
Cuadrante 1	1	1	0	1	0	0	2	2	1	1	2	5	5	3	3	2	3	4	6	1		43
Cuadrante 2	2	2	0	3	3	1	0	1	1	3	0	1	0	1	1	3	1	1	7	1		32
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	47																					
Cuadrante 1	0	1	4	0	1	0	1	3	0	0	2	1	0	1	1	1	1	2	0	2		21
Cuadrante 2	1	1	2	3	1	5	2	0	2	4	0	1	2	0	1	0	2	5	2	9		43
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	42																					
Cuadrante 1	3	0	0	1	1	1	4	4	2	2	2	2	0	6	2	2	0	1	5	5		43
Cuadrante 2	28	3	15	27	32	30	20	3	0	6	0	5	1	0	6	0	3	2	2	1		184
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	46																					
Cuadrante 1	1	0	3	2	1	0	5	3	2	0	0	1	2	0	0	3	2	5	3	0		33
Cuadrante 2	0	0	1	3	3	3	2	1	10	3	2	11	0	8	3	1	2	6	1	1		61

Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio


Anexo 29. Conteo de conidios, Grupo Funcional Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (RAIZ).

R1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	SUMA	PROMEDIO
N° COLONIAS	74																					
Cuadrante 1	0	1	1	1	1	0	2	0	1	3	1	3	2	0	1	0	4	3	2	1		27
Cuadrante 2	0	0	0	1	1	1	0	2	1	1	0	0	1	2	1	0	0	2	0	1		14
R2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	25																					
Cuadrante 1	0	0	0	0	3	1	1	1	2	1	1	2	0	2	1	1	3	4	6	3		32
Cuadrante 2	0	0	0	0	1	3	4	3	5	3	0	0	3	0	1	2	1	3	9	7		45
R3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	37																					
Cuadrante 1	4	3	1	0	8	4	6	12	3	2	3	3	4	11	5	16	21	26	21	8		161
Cuadrante 2	2	1	2	3	3	1	3	0	1	3	1	4	3	0	1	4	2	3	9	6		52
R4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	32																					
Cuadrante 1	0	0	0	2	1	8	13	7	11	6	1	28	25	17	26	3	0	4	3	0		155
Cuadrante 2	1	0	0	0	1	7	2	3	0	1	1	1	3	0	3	3	9	0	1	4		40
R5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
N° COLONIAS	44																					
Cuadrante 1	1	0	2	1	1	12	20	12	3	8	1	10	4	2	6	4	2	5	0	0		94
Cuadrante 2	2	0	0	0	2	7	4	5	0	2	3	6	0	0	5	0	5	2	3	1		47


Elaborado por: Chiquimba Pinan Erik Vinicio

Anexo 30. Análisis de suelo

MC-LASPA-2201-01



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



INFORME DE ENSAYO No: 21-0536

NOMBRE DEL CLIENTE: Chasi Vizuet Wilman Paolo
PETICIONARIO: Natalia Nasimba
EMPRESA/INSTITUCIÓN: Natalia Nasimba
DIRECCIÓN: Pujili

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

54

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

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

OBSERVACIONES: * Ensayos no solicitados por el cliente

METODOLOGIA USADA

pH = Suelo: Agua (1-2,3)
S.B = Fósforo de Calcio
P K Ca Mg = Olsen Modificado
Cu Fe Mn Zn = Olsen Modificado
B = Curcuma

INTERPRETACION

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

ABREVIATURAS


C.E. = Conductividad Eléctrica
M.O. = Materia Orgánica

METODOLOGIA USADA


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

INTERPRETACION

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



Josef Alonzo Lucero Malatay
LABORATORISTA



Ivan Rodrigo Samaniego Maligua
RESPONSABLE DE LABORATORIO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.
Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo
Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.
Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo
NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigido únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.
* Opiniones de interpretación ,etc, que se indican en este informe constituye una guía para el cliente.

Anexo 31. Cronograma de Actividades

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

Elaborado por: Cruz, Chiquimba, Nasimba & Ortiz, 2021

Anexo 32. Aval del 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: **“IDENTIFICACIÓN DE CONSORCIOS BACTERIANOS Y GRUPOS FUNCIONALES ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE LA PAPA (*Solanum tuberosum*), var. LEONA BLANCA EN EL PISO ALTITUDINAL DE 3800 msnm. COTOPAXI, 2021”** presentado por: **Chiquimba Pinan Erik Vinicio**, 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, Septiembre del 2021

Atentamente,

Mg. Patricia Marcela Chacón Porras
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 0502211196



Firmado electrónicamente por:
**MARCO PAUL
 BELTRAN
 SEMBLANTES**



**CENTRO
 DE IDIOMAS**