



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE AGROPECUARIA**

**IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DE LA
RIZOSFERA DE PLANTAS LEGUMINOSAS EN
MANGLARALTO, PROVINCIA DE SANTA ELENA**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
MODALIDAD: TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR-TRABAJOS
EXPERIMENTALES**

Requisito parcial para la obtención del título de:

INGENIERO AGROPECUARIO

Adrian Antonio De La Rosa Parrales

LA LIBERTAD, NOVIEMBRE 2024



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE AGROPECUARIA**

**IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DE LA
RIZOSFERA DE PLANTAS LEGUMINOSAS EN
MANGLARALTO, PROVINCIA DE SANTA ELENA**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
MODALIDAD: TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR-TRABAJOS
EXPERIMENTALES**

Autor/a: Adrian Antonio De La Rosa Parrales

Tutor/a: Blgo. Javier Soto Valenzuela, PhD.

LA LIBERTAD, 2024

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **ADRIAN ANTONIO DE LA ROSA PARRALES** como requisito parcial para la obtención del grado de Ingeniero/a Agropecuario de la Carrera de Agropecuaria.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 10/12/2024



Firmado electrónicamente por:
**NADIA ROSAURA
QUEVEDO PINOS**

Ing. Verónica Andrade Yucailla, PhD.
**DIRECTORA DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

Ing. Nadia Quevedo Pinos, PhD.
**PROFESORA ESPECIALISTA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Firmado electrónicamente por:
**JAVIER OSWALDO SOTO
VALENZUELA**

Blgo. Javier Soto Valenzuela, PhD.
**PROFESOR TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Firmado electrónicamente por:
**NADIA ROSAURA
QUEVEDO PINOS**

Ing. Nadia Quevedo Pinos, PhD.
**PROFESORA GUÍA DE LA UIC
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Firmado electrónicamente por:
**WASHINGTON VIDAL
PERERO VERA**

Ing. Washington Perero Vera Mgtr.
**ASISTENTE ADMINISTRATIVO
SECRETARIO**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme la fortaleza en los momentos más difíciles de la vida.

A mí tutor el Blgo. Javier Soto Valenzuela, PhD. por sus conocimientos, sabiduría y orientación brindada durante todo el proceso de mi investigación.

A mis padres María Parrales Villa y Jorge De La Rosa, quienes fueron mi apoyo e inspiración durante mi carrera universitaria.

A mis amigos y futuros colegas Abel, Johan, Luis, Dana, María, Erika, Maybe, a los Ingenieros Anthony y Noelia.

Quiero agradecer de corazón a la Srta. Narcisa Lourdes Chevez Lay, quien me brindo de su apoyo, amistad y cariño para poder seguir con mi meta universitaria y ser el orgullo de mi familia especialmente de mi Madre.

Finalmente agradezco a las autoridades, docentes y trabajadores de la carrera de Ingeniería Agropecuaria, quienes me brindaron de sus conocimientos para fortalecer mi desarrollo profesional.

DEDICATORIA

A Dios.

Por darme vida, salud, sabiduría, fortaleza y entendimiento.

A mis padres.

María Lourdes Parrales Villa y Jorge Antonio De La Rosa De La Cruz.

A mis hermanos.

Gabriel, Cristina, Israel, Nelly y Abraham.

A mis sobrinos.

Alexis, Dominic y Carla.

A mi abuelita y ángel de la guarda.

Rosario Villa que desde el cielo me brinda protección, cariño y amor.

RESUMEN

Los microorganismos de la rizosfera son esenciales para la sostenibilidad de los ecosistemas, ya que participan en el ciclo de nutrientes y la salud del suelo. Este estudio se centra en la identificación de microorganismos en la rizosfera de leguminosas cultivadas en Manglaralto, provincia de Santa Elena, debido a que los microorganismos rizosféricos desempeñan un papel crucial en la nutrición de las plantas, especialmente en las leguminosas, que establecen relaciones simbióticas con bacterias fijadoras de nitrógeno y micorrizas. Los objetivos del estudio incluyen identificar, cuantificar y aislar microorganismos presentes en *Arachis pintoi*, *Clitoria ternatea* y *Phaseolus lunatus*. Se utilizaron técnicas morfo-bioquímicas para el aislamiento y caracterización de las muestras de suelo colectadas. Los resultados obtenidos mostraron una abundante diversidad microbiana, destacando la presencia de géneros como *Aspergillus sp*, *Penicillium sp* y *Rhizopus sp*, así como varias cepas bacterianas con características de rizobios. Estas cepas rizobacterianas presentaron coloración blanquecina gomosa, transparente gomosa, y blanca gomosa con formas de cocos, bacilos, cocobacilos y estreptococos. Este estudio evidencia la presencia de rizobacterias y hongos en la rizosfera de las tres leguminosas, las cuales podrían tener potencial para mejorar la salud del suelo y promover el crecimiento vegetal. Los hallazgos subrayan la necesidad de continuar investigando estas interacciones para desarrollar prácticas agrícolas sostenibles que optimicen el uso de microorganismos beneficiosos.

Palabras claves: Microorganismos, aislar, identificar, rizobios, hongos.

ABSTRACT

Rhizosphere microorganisms are essential for ecosystem sustainability, as they participate in nutrient cycling and soil health. This study focuses on the identification of microorganisms in the rhizosphere of legumes grown in Manglaralto, Santa Elena province, because rhizospheric microorganisms play a crucial role in plant nutrition, especially in legumes, which establish symbiotic relationships with nitrogen-fixing bacteria and mycorrhizae. The objectives of the study include identifying, quantifying and isolating microorganisms present in *Arachis pintoii*, *Clitoria ternatea* and *Phaseolus lunatus*. Morpho-biochemical techniques were used for the isolation and characterization of the collected soil samples. The results obtained showed abundant microbial diversity, highlighting the presence of genera such as *Aspergillus sp*, *Penicillium sp* and *Rhizopus sp*, as well as several bacterial strains with rhizobium characteristics. These rhizobacterial strains presented whitish gummy, transparent gummy, and white gummy coloration with cocci, bacilli, coccobacilli, and streptococci shapes. This study evidences the presence of rhizobacteria and fungi in the rhizosphere of the three legumes, which could have the potential to improve soil health and promote plant growth. The findings underline the need to continue investigating these interactions to develop sustainable agricultural practices that optimize the use of beneficial microorganisms.

Keywords: Microorganisms, isolate, identify, rhizobia, fungi.

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

El presente Trabajo de Integración Curricular titulado **“IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DE LA RIZOSFERA DE PLANTAS LEGUMINOSAS EN MANGLARALTO, PROVINCIA DE SANTA ELENA”** y elaborado por **ADRIAN ANTONIO DE LA ROSA PARRALES**, declara que la concepción, análisis y resultados son originales y aportan a la actividad científica educativa agropecuaria.

Transferencia de derechos autorales.

"El contenido del presente Trabajo de Graduación es de mi responsabilidad; el patrimonio intelectual del mismo pertenece a la Universidad Estatal Península de Santa Elena".



Firmado electrónicamente por:
**ADRIAN ANTONIO DE
LA ROSA PARRALES**

Firma del estudiante

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
Problema Científico	2
Justificación	2
Objetivos	2
Objetivo General:.....	2
Objetivos Específicos:.....	2
Hipótesis	2
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1.1 Microorganismos del suelo	3
1.2 Tipos de microorganismos	3
1.2.1 Suelos.....	3
1.2.2 Bacterias.....	4
1.2.3 Hongos.....	4
1.3 Caracterización morfológica de bacterias	4
1.4 Caracterización morfológica de hongos	4
1.5 Interacciones entre plantas y microorganismos	5
1.6 Conceptos generales del cultivo frejol pallar (<i>Phaseolus lunatus</i>)	5
1.6.1 Origen	5
1.6.2 Taxonomía	6
1.6.3 Descripción	6
1.7 Conceptos generales de la conchita azul (<i>Clitoria ternatea</i>)	6
1.7.1 Origen	6
1.7.2 Taxonomía	6
1.7.3 Descripción	7
1.8 Conceptos generales del maní forrajero (<i>Arachis pintoi</i>)	7
1.8.1 Origen	7
1.8.2 Taxonomía	7
1.8.3 Descripción	8
1.9 Muestreo de suelo	8
1.9.1 Tipos de muestreo de suelo.....	8
1.10 Importancia de los microorganismos en el suelo	9

1.11	Caracterización de Rizobacterias.....	9
1.12	Interacción Rhizobium-leguminosa-suelo-ambiente.....	9
1.13	Estudio de microorganismos del suelo.....	10
1.13.1	Recuento microbiano mediante su cultivo.....	10
1.14	Técnicas bioquímicas para la identificación de los microorganismos	10
1.15	Pruebas bioquímicas.....	11
1.15.1	Tinción de Gram.....	11
1.15.2	Catalasa.....	11
1.15.3	Azul de lactofenol.....	11
	CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
2.1	Caracterización del área	12
2.2	Condiciones edafoclimáticas de Manglaralto.....	12
2.2.1	Clima de Manglaralto	12
2.2.2	Suelo de Manglaralto	12
2.3	Material biológico y condiciones experimentales.....	12
2.3.1	Características de las leguminosas en estudio	13
2.4	Materiales, equipos y reactivos	13
2.4.1	Material de campo para recolecta de muestras	13
2.4.2	Material de laboratorio.....	13
2.4.3	Equipos de laboratorio	14
2.4.4	Insumos y reactivos	14
2.5	Tipo de investigación	15
2.6	Diseño de investigación	15
2.6.1	Diseño experimental	15
2.7	Manejo del experimento.....	15
2.7.1	Fase de campo.....	15
2.7.2	Almacenamiento y conservación de las muestras.....	16
2.7.3	Esterilización de materiales	16
2.7.4	Preparación de muestras para aislar microorganismos	17
2.7.5	Procedimiento de preparación de medio de cultivo.....	17
2.7.6	Siembra de microorganismo en cajas Petri.....	18
2.7.7	Incubación para el crecimiento de microhongos y bacterias	19
2.7.8	Pruebas para la identificación morfológica de microhongos y bacterias.....	19
2.8	Parámetros a evaluar	19
2.8.1	Cuantificación de microorganismos expresados UFC/g suelo seco	19

2.8.2 Morfología de microorganismos	20
2.9 Análisis de los resultados	20
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
3.1 Análisis de suelo.....	21
3.2 Cuantificación de bacterias rizosféricas aisladas de cultivos de leguminosas....	21
3.3 Cuantificación de microhongos aisladas de cultivos de leguminosas.....	23
3.4 Crecimiento de microorganismos rizosfericos, en valores de pH y materia orgánica.	24
3.5 Aislamiento de cepas bacterianas.....	25
3.6 Identificación y caracterización morfo-bioquímicas de aislados bacteriano	26
3.7 Identificación de microhongos.....	27
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	29
Conclusiones.....	29
Recomendaciones.....	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
ANEXOS	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Plan de colecta de submuestras y muestras de cada leguminosa en el centro de apoyo Manglaralto-UPSE.....	16
Tabla 2. Esquema de diluciones y repeticiones.....	18
Tabla 3. Valores del análisis del suelo obtenidas del área de leguminosas.....	21
Tabla 4. Caracterización fenotípica y bioquímica de cepas rizosféricas en leguminosas	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Procedimiento de la preparación de diluciones para el recuento de microorganismos. ...	17
Figura 2. Promedios de colonias bacterianas rizosféricas UFC/g suelo seco.	22
Figura 3. Promedios de la cuantificación de colonias de microhongos UFC/g suelo seco	23
Figura 4. Relación promedios de bacterias rizosféricas UFC/g suelo seco, MO y pH	24
Figura 5. Relación promedios de microhongos rizosféricos UFC/g suelo seco, MO y pH	24
Figura 6. Porcentajes de aislados bacterianos de la rizosfera de leguminosas procedentes del centro de Apoyo Manglaralto.....	25
Figura 7. Microhongos aislados de <i>Arachis pintoi</i> : <i>Aspergillus</i> sp. A, B, C	28
Figura 8. Microhongos aislados de <i>Clitoria ternatea</i> : <i>Aspergillus</i> sp A, B , <i>Penicillium</i> sp C	28
Figura 9. Microhongos aislados de <i>Phaseolus lunatus</i> : <i>Aspergillus</i> sp A , <i>Penicillium</i> sp B , <i>Rhizopus</i> sp C	28

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1A. Informe del análisis de suelo del cultivo frejol pallar (<i>Phaseolus Lunatus</i>) del área agrícola.....	35
Anexo 2A. Informe del análisis de suelo del cultivo maní forrajero (<i>Arachis pintoi</i>), conchita azul (<i>Clitoria ternatea</i>) del área forrajero.....	37
Anexo 3A. Promedios UFC/g suelo seco (bacterias).....	39
Anexo 4A. Promedios UFC/g suelo seco (microhongos).....	40
Anexo 5A. Microhongos encontrados en las leguminosas de Manglaralto.....	41
Anexo 6. Colecta y homogenización de submuestras de la rizosfera de Leguminosas.....	41
Anexo 7A. Muestras de la rizosfera de Leguminosas.....	42
Anexo 8A. Preparación de diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}	42
Anexo 9A. Reactivos utilizados para la preparación de medios de cultivo.....	43
Anexo 10A. Siembra de microorganismos en los respectivos medios de cultivo.....	43
Anexo 11A. Cuantificación de microorganismos.....	44
Anexo 12A. Incubación de muestras para la propagación de microorganismos.....	44
Anexo 13A. Pruebas bioquímicas.....	45
Anexo 14A. Purificación de cepas rizosféricas.....	45
Anexo 15A. Bacterias rizosféricas aisladas de Leguminosas.....	46
Anexo 16A. Microhongos aislados de Leguminosas.....	46

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos del suelo son fundamentales para la sustentabilidad de los ecosistemas, ya que participan en el ciclado de nutrientes, la regulación de la materia orgánica, el secuestro de carbono y la retención de agua. Estos organismos facilitan el crecimiento vegetal al aumentar la disponibilidad de nutrientes y contribuir a la salud del suelo. Las plantas leguminosas establecen relaciones simbióticas con microorganismos rizosféricos, que son esenciales para su desarrollo (Correa, 2013).

La diversidad y abundancia de estos microorganismos dependen de los exudados radiculares, que atraen a organismos beneficiosos. Las interacciones entre microorganismos y cultivos pueden ser favorables, perjudiciales o neutrales, variando según las condiciones del suelo (Soroa *et al.*, 2008). Estas poblaciones microbianas influyen en el crecimiento vegetal mediante mecanismos como la producción de fitohormonas, mineralización de fosfatos y fijación biológica de nitrógeno (Soto *et al.*, 2012).

Alexander (2010), plantea que los microorganismos obtienen gran parte de sus nutrientes de la porción inanimada del suelo, lo que hace importante considerar su composición química. Algunas especies adquieren carbono y nitrógeno de la atmósfera en forma de CO₂, CH₄ o N₂, mientras que otros nutrientes provienen de las fases líquida o sólida del suelo. La densidad microbiana es mayor en las zonas internas, donde las interacciones bioquímicas con las raíces son más intensas. La superficie de las raíces y el suelo que se adhiere a ellas se conoce como rizoplano.

Por otra parte, las rizobacterias desempeñan un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo de leguminosas como *Phaseolus lunatus*, *Arachis pintoi* y *Clitoria ternatea*. Estas bacterias, que habitan en la rizosfera, establecen interacciones simbióticas que benefician a las plantas al facilitar la fijación de nitrógeno atmosférico a través de la simbiosis con *Rhizobium*, estas relaciones simbióticas no solo mejoran la disponibilidad de nutrientes, sino que también interactúan en su crecimiento (Bahena *et al.*, 2016).

En este contexto, la provincia de Santa Elena ofrece condiciones favorables para el cultivo de leguminosas (Soto *et al.*, 2012). Dado que los microorganismos juegan un papel indispensable en la dinámica del suelo, se han realizado diversas investigaciones sobre su presencia e interacción con las leguminosas. Este estudio se centra en la identificación de los microorganismos presentes en la rizosfera de las leguminosas *Arachis pintoi*, *Clitoria ternatea*, y *Phaseolus lunatus* cultivadas en el Centro de Apoyo Manglaralto, con la finalidad de comprender mejor la dinámica rizobios-leguminosas y su relación con el suelo.

Problema Científico

¿La presencia de microorganismos rizosféricos confirma la interacción con sus plantas hospederas cultivadas en el Centro de Apoyo Manglaralto-UPSE?

Justificación

El presente trabajo forma parte del proyecto de investigación titulado: Identificación y uso de microorganismos nativos como PGPRS para mejorar la producción agropecuaria en la península de Santa Elena, el cual es de gran relevancia debido a que los microorganismos presentes en la rizosfera desempeñan un papel crucial en la nutrición y salud de las plantas, especialmente en las leguminosas. La rizosfera, como entorno que rodea las raíces de las plantas, constituyen un microecosistema clave donde influyen directamente la disponibilidad de nutrientes, los estimuladores de crecimiento y la salud del suelo.

La importancia de este trabajo pretende contribuir a mejorar el entendimiento de las interacciones suelo-planta-rizobios, los cuales contribuirían a mejorar la productividad agrícola evitando la aplicación de insumos químicos que perjudican los ecosistemas. Al fomentar un enfoque natural y sostenible en la agricultura, se busca no solo aumentar los rendimientos de los cultivos, sino también preservar la biodiversidad y la salud del medio ambiente. Por lo tanto, este estudio tiene implicaciones para la producción agrícola, economía social, el manejo sostenible de los recursos naturales y la conservación del ecosistema.

Objetivos

Objetivo General:

- ❖ Identificar microorganismos presentes en la rizosfera de los cultivos *Arachis pintoii*, *Clitoria ternatea* y *Phaseolus lunatus*, utilizando técnicas morfo-bioquímicas.

Objetivos Específicos:

1. Aislar los microorganismos procedentes de muestras de suelo de tres cultivos de leguminosas en el Centro de Apoyo Manglaralto (UPSE), provincia de Santa Elena.
2. Cuantificar los microorganismos aislados de la rizosfera de las leguminosas colectadas en el Centro de Apoyo Manglaralto (UPSE), provincia de Santa Elena.
3. Identificar bacterias y microhongos aislados en la rizosfera de las tres leguminosas en estudio.

Hipótesis

La identificación de los microorganismos rizosféricos aislados de las leguminosas indicarán que existe una probable interacción entre suelo-planta-microorganismos.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Microorganismos del suelo

Los microorganismos son pequeños seres que no se pueden ver por el ojo humano y es necesario un microscopio para visualizarlos y estudiarlos. La estructura de los microorganismos es muy simple y alberga especies beneficiosas, patógenas y otras que varían según las circunstancias, dentro de los microorganismos existen especies unicelulares y pluricelulares (Sanchez, 2023).

Existe una inmensa diversidad de microorganismos en el suelo, de los cuales se conoce que bacterias y hongos son los más abundantes; de los géneros de bacterias con mayor estudio se encuentran: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter* y *Azospirillum* (García, 2011).

1.2 Tipos de microorganismos

La división de los microorganismos es un tema cada vez más complejo. Algunos de ellos, debido a su facilidad para compartir material genético complican su estudio filogenético, es decir, nuestra capacidad de clasificarlos según su parentesco. Otros microorganismos presentan morfologías y funciones muy similares, pese a tener muy poco en común, cada uno de estos grupos tiene ciertas características morfológicas y genéticas que les distinguen de una manera más o menos precisa (Garófalo, 2019).

1.2.1 Suelos

Los microorganismos toman gran parte de sus nutrientes de la porción inanimada del suelo, por lo que se requiere considerar la composición química de este medio ambiente, algunas especies obtienen carbono o nitrógeno de la atmósfera en forma de CO₂, CH₄ o N₂; así como el resto de los nutrientes microbianos se obtienen de la fase líquida o sólida del suelo. Las cifras microbianas son mayores en la zona interior donde las interacciones entre los microorganismos y las raíces son más pronunciadas (Alexander, 2010).

Las bacterias del suelo son esenciales en la rizosfera, con unas 30.000 especies estimadas e identificando alrededor del 8%. Estas bacterias participan en la descomposición de materia orgánica y son cruciales en los ciclos biogeoquímicos, transformando los nutrientes para las plantas (Cordova *et al.*, 2018). Asimismo, los microhongos son fundamentales en los ecosistemas, ya que establecen simbiosis con aproximadamente el 80% de las plantas, mejorando la absorción de nutrientes y agua (Zambrano, 2012).

1.2.2 Bacterias

Son organismos unicelulares que pertenecen al grupo de los procariontes; esto quiere decir que carecen de un núcleo celular y de orgánulos como las mitocondrias, los cloroplastos o el aparato de Golgi, por lo que su material genético (ADN) se encuentra libre en el citoplasma. A pesar de su sencilla organización celular, presentan una gran diversidad de formas conocidas como filamentos, cocos, bacilos, vibrios y espirilos. Las bacterias miden entre 0.5 y 5 μ de longitud; son tan pequeñas que es imposible verlas a simple vista, excepto cuando se agrupan en colonias (Contreras *et al.*, 2017).

1.2.3 Hongos

Los hongos se clasifican en unicelulares, como las levaduras del pan y la cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*), o pluricelulares, los cuales se caracterizan por formar cuerpos filamentosos, como los champiñones. Según su tipo de hábitat también pueden ser saprófitos, que se alimentan de sustancias en descomposición; parásitos que, se alimentan de los líquidos internos de otros seres vivos; o simbioses, que se asocian a otros organismos con beneficios mutuos (Contreras *et al.*, 2017).

1.3 Caracterización morfológica de bacterias

Las bacterias se multiplican rápidamente y son visibles como unidad formadora de colonia (UFC), está constituida por una o más características como: tamaño, puede variar desde 0.5 mm o más. Las formas de la colonia pueden ser: irregular, puntiforme, circular, los bordes pueden ser ondulados, enteros, lobulados, filamentosos. Entre los tipos de superficie de la colonia se encuentran: plana, convexa y elevada. Con relación al pigmento que adquieren este puede ser: verde, amarillo y grisáceo. (Cevallos y Viracucho, 2018).

1.4 Caracterización morfológica de hongos

Según Hernández (2014), menciona que los hongos pueden crecer como mohos o levaduras, algunas especies son dimórficas es decir a 37°C son capaces de crecer como levaduras y a 25°C se desarrollan como mohos. La morfología de levaduras y mohos se describe como:

- **Mohos:** Microscópicamente, los mohos son organismos multicelulares, forman túbulos cilíndricos y ramificados denominados hifas, poseen un diámetro de 2 a 10 μ m y crecen por extensión en longitud desde el extremo de un filamento, así se forma una masa de hifas entrelazadas denominada micelio. Macroscópicamente, los mohos

se desarrollan en el laboratorio sobre la superficie de sustratos o medios de cultivo, formando colonias aéreas, de aspecto algodonoso, vellosas o pulverulentas y de color variable.

- **Levaduras:** Microscópicamente las levaduras son organismos unicelulares, de forma esférica o elipsoidal, y tamaño variable de 3 a 15 μm de diámetro. La mayoría de las levaduras se reproducen por gemación o brotación, aunque unas pocas lo hacen por fisión binaria. Macroscópicamente las levaduras crecen en los medios de cultivo sólidos formando colonias opacas, de aspecto pastoso, color cremoso, aunque algunas especies son característicamente pigmentadas (Hernández, 2014).

1.5 Interacciones entre plantas y microorganismos

La interacción entre las plantas y los microorganismos durante millones de años ha dado lugar a complejas relaciones, que actualmente se observan tanto en ecosistemas naturales como agrícolas, con microorganismos beneficiosos, pero también con patógenos, especialmente bacterias y hongos, de esas interacciones en estos ecosistemas subterráneos surge el término rizosfera, para referirse a la zona donde se desarrollan las raíces de las plantas y conviven los diferentes tipos de microorganismos que interactúan con ellas y entre sí (Dolatabadian, 2021).

Así como también, García (2023) menciona que las interacciones plantas-microbios se basan en un principio común de la biosfera que es el intercambio de nutrientes o en definitiva de energía, dependiendo de cómo sea ese intercambio, se establecen las diferentes relaciones: beneficiosas para plantas y microbios (donde se establecen relaciones simbióticas), o perjudiciales para las plantas y beneficiosas para los microorganismos, que resultan ser parásitos o patógenos si llegan a producir la muerte o enfermedad de la planta.

1.6 Conceptos generales del cultivo frejol pallar (*Phaseolus lunatus*)

1.6.1 Origen

Considerado una fuente de nutrientes muy valiosa en países en desarrollo, conocido comúnmente como “frejol pallar” es la segunda en importancia en su género después de *Phaseolus vulgaris*, ambas son de origen neotropical y pueden estar separadas por dos acervos genéticos, el de los Andes y Mesoamericano, que posiblemente estén relacionados con sus respectivos centros de domesticación, originalmente proviene de Mesoamérica y los

Andes, actualmente se cultiva en América Latina, Estados Unidos y otros países (Castillo, 2021).

1.6.2 Taxonomía

Según Llerena (2005), el género *Phaseolus* al que pertenece el frejol pallar se clasifica de la siguiente manera:

Reino: Vegetal

División: Fanerógama

Subdivisión: Angiosperma

Clase: Dicotiledóneas.

Orden: Rosales.

Familia: Papilionáceas.

Subfamilia: Papilioneidae.

Tribu: Phaseolae.

Subtribu: Phasiolinoe.

Género: *Phaseolus*.

Especie: *lunatus*

1.6.3 Descripción

Es una planta leguminosa, que presenta una gran variación en la forma de sus tallos, vainas y semillas debido a mutaciones comunes a la especie. Sus vainas tienen forma oblonga de 5 a 12 cm de longitud y contienen de 2 a 6 semillas, éstas son grandes, planas y arriñonadas; variadas en cuanto a forma, tamaño y color (Saldaña, 2016).

1.7 Conceptos generales de la conchita azul (*Clitoria ternatea*)

1.7.1 Origen

Es una leguminosa originaria de Asia, la especie fue descrita por vez primera por Linneo en el año 1767 en la isla indonesia de Ternate, razón por la que su forma y lugar de origen fueron inspiración para su nombre (Karel, 2014).

1.7.2 Taxonomía

González (2020), describe la siguiente clasificación taxonómica.

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Faboideae

Tribu: Phaseoleae

Subtribu: Clitoriinae

Género: *Clitoria*

Especie: *ternatea*

1.7.3 Descripción

Presenta características de crecimiento semi-arbustivo y semierecto, posee raíces profundas que le permiten tolerar las sequías; sus hojas son pinnadas, elípticas de 3 a 5 cm. de largo, las flores son de color azul o blancas y se presentan simples o apareadas, las vainas son lineares, plantas y ligeramente pubescentes de 8 a 12 cm de largo y de 0.7 a 1.2 cm de ancho con 6 a 10 semillas. Las semillas son de color negro de 4.5 a 6 mm de longitud y 3.4 mm de ancho (Zambrano, 2015).

1.8 Conceptos generales del maní forrajero (*Arachis pintoi*)

1.8.1 Origen

El maní forrajero *A. pintoi* tiene su origen en Sudamérica, crece en forma nativa al este de la cordillera de los Andes, entre los ríos Amazonas y La Plata, específicamente Brasil. En la actualidad se puede encontrar en los trópicos, los subtropicos y zonas ecuatoriales hasta los 2000 msnm (Coello y Aragón, 2020).

1.8.2 Taxonomía

De acuerdo con Alay (2017), se muestra la clasificación taxonómica del cultivo *A. pintoi*.

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae (Papilionaceae)

Tribu: Aeschynomeneae

Subtribu: Stylosanthinae

Sección: Caulorhizae

Género: *Arachis*

Especie: *pintoi*

1.8.3 Descripción

Es una leguminosa perenne, herbácea de crecimiento rastrero, puede alcanzar 40 cm de altura. Su raíz es pivotante y su tallo circular, las hojas son alternas y compuestas, de cuatro folíolos y estípulas pubescentes. Su inflorescencia es en forma de espiga axilar de color amarillo. El fruto es una vaina indehisciente. Puede soportar hasta 3 unidades animales por hectárea en asociación con gramíneas (Gelvez, 2021).

1.9 Muestreo de suelo

Refiere al proceso de recolectar muestras representativas del suelo con el fin de realizar análisis y estudios. Esta técnica es fundamental en la investigación y manejo de suelos, ya que proporciona información crucial sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas. El muestreo se lleva a cabo siguiendo procedimientos estandarizados para garantizar la precisión y representatividad, se seleccionan puntos estratégicos en el área de estudio considerando variables como el tipo de suelo, el uso de la tierra y la variabilidad espacial (Najera, 2023).

1.9.1 Tipos de muestreo de suelo

De acuerdo con Mendoza y Espinoza (2017), el muestreo de suelo se subdivide en:

- **Muestra compuesta:** Se refiere a la muestra de suelo obtenida de varias extracciones o muestras simples, reunidas en un recipiente codificado por profundidad, si es el caso, y luego bien mezcladas, de donde se retira un kg de suelo. Es el muestreo más utilizado para planificar fertilización. Se recomienda entre seis y doce submuestras por unidad de muestreo.
- **Muestra simple:** es la muestra obtenida de una sola extracción del suelo. Son usadas en trabajos de investigación, extensión, y en suelos muy homogéneos. Se recomienda tomar una muestra de un kg por hectárea suelo, para fines de nutrición de plantas.

1.10 Importancia de los microorganismos en el suelo

La importancia de los microorganismos que se encuentran dentro de todos los suelos posee unas capacidades, estudiadas y algunas aún por hacerlo, que les permiten la mejora del suelo y la promoción del crecimiento vegetal. A estas capacidades intrínsecas se las conoce como actividades PGPRs, del inglés “Plant Growth Promoting Rhizobateria” (Toten, 2022).

1.11 Caracterización de Rizobacterias

Las bacterias de vida libre o asociativas que habitan la rizosfera pueden estimular el crecimiento de las plantas a través de varios mecanismos como: síntesis de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, fijación de nitrógeno, solubilización de nutrientes, producción de sideróforos y control de fitopatógenos del suelo. Entre los más estudiados se encuentran *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Beijerinckia*, *Pseudomonas* y *Bacillus* (Osti *et al.*, 2004).

Por otro lado, las rizobacterias con mayor inhibición sobre el hongo, se caracterizan en función de sus propiedades promotoras del crecimiento vegetal. Lo cual consiste en la identificación mediante la morfología colonial, tintorial y metabolismo (Clavijo *et al.*, 2012).

1.12 Interacción *Rhizobium*-leguminosa-suelo-ambiente

A la interacción *Rhizobium*-leguminosa se le conoce como simbiosis, es decir, una interacción en la que ambos organismos se ven beneficiados. La planta recibe directamente una fuente de nitrógeno, derivada de la FBN (amoníaco), mientras que la bacteria recibe de la planta una fuente de carbono (azúcares), derivada de la fotosíntesis (Acosta, 2017).

El éxito ecológico de las leguminosas puede estar influenciado por sus simbioses bacterianos (Selosse *et al.*, 2004). Existen ejemplos de uso de rizobios para complementar la conservación de leguminosas en peligro, para lo cual se requiere tener conocimiento de la diversidad y características de los simbioses asociados a la planta (Soto, 2020).

Los microorganismos se encuentran en casi todos los ambientes y cada uno presenta un rango de temperatura de crecimiento, con una temperatura mínima, debajo de la cual no se evidencia el crecimiento; una óptima, donde este es máximo y una máxima, por encima de la cual el crecimiento cesa (Madigan *et al.*, 2004).

1.13 Estudio de microorganismos del suelo

1.13.1 Recuento microbiano mediante su cultivo

- **Recuento poblacional:** Técnica donde se realizan estudios microbiológicos en el suelo ejecutando recuentos de viables en suspensiones de suelo de un medio general para el desarrollo de microorganismos. Entre los medios de cultivo más utilizados se encuentra Agar Extracto de Levadura Glucosado y Agar Extracto de Suelo (Benintende y Sánchez, 2000).
- **Recuento de grupos funcionales:** Se refieren a grupos de microorganismos que cumplen una funcionabilidad específica en el suelo, para su recuento se utilizan medios selectivos, en ocasiones se utilizan medios que emplean sílice gel como solidificante. Existen microorganismos que no logran desarrollarse en medios sólidos, y llegan a desarrollarse en medios líquidos utilizando los recuentos por NMP (número más probable), como lo mencionan Benintende y Sánchez (2000).

1.14 Técnicas bioquímicas para la identificación de los microorganismos

La identificación de bacterias se ha basado en combinaciones de pruebas fisiológicas y bioquímicas, mientras que la identificación de hongos se ha realizado con base en características morfológicas, como tipo de spora, forma y color. Sin embargo, en los últimos 40 años, los avances en la bioquímica microbiana y biología molecular han permitido la expansión de los métodos de diagnóstico y procedimientos de identificación de diferentes patógenos de plantas (Estrada y Zapata, 2009).

La detección de actividades bioquímicas se realiza fundamentalmente sobre medios sólidos o líquidos, y se basa en la apariencia del crecimiento o un cambio de color. Estas pruebas involucran la adición de sustratos apropiados al medio, junto con un sistema que permite la detección bien sea de su degradación o de uno de los productos asociados con ella (Bridge, 2002).

Estrada y Zapata (2009) mencionan que, las bacterias han sido identificadas por sus funciones metabólicas, tales como su habilidad para metabolizar ciertos sustratos mediante el sistema API (Analytical Profile Index) para diferenciar cepas de *Erwinia* y *Pseudomonas*. Adicionalmente, el análisis de proteínas solubles mediante electroforesis en geles ha sido adoptado para hongos y bacterias.

1.15 Pruebas bioquímicas

1.15.1 Tinción de Gram

Procedimiento empleado en laboratorios donde manejan pruebas microbiológicas definidas como una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas y Gram positivas. La pared celular de las bacterias Gram negativas está constituida por una capa fina de peptidoglicano y una membrana celular externa, mientras que las Gram positivas poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglicano, pero no cuentan con membrana celular externa; la composición química y el contenido de peptidoglicano en la pared celular de las bacterias Gram negativas y Gram positivas explica y determina las características tintoriales (Jácome *et al.*, 2014).

1.15.2 Catalasa

La mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas produce una enzima llamada catalasa que degrada el peróxido de hidrógeno obteniendo agua y oxígeno gaseoso el cual es liberado en forma de gas, este tipo de prueba bioquímica es muy útil para observar la presencia de la enzima catalasa encargada de descomponer el peróxido (H_2O_2) en oxígeno y agua. El método usual es realizar un frotis, agregarle una gota de peróxido, si se visualiza la formación de burbujas el resultado es positivo, mientras que si no sucede de lo contrario el resultado es negativo (Hernández, 2017).

1.15.3 Azul de lactofenol

La tinción azul de lactofenol no es considerada una tinción diferencial, sin embargo, posee características tintoriales que permiten observar cada uno de los componentes fúngicos y apreciar fácilmente las estructuras para una adecuada identificación. El fenol inactiva las enzimas líticas de la célula e impide que ésta se rompa; de igual forma, destruye la flora acompañante e inactiva a la célula, quitándole el grado de patogenicidad; además, actúa como mordiente cuando se usa en combinación con colorantes (Jácome *et al.*, 2014).

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Caracterización del área

La presente investigación se realizó en las instalaciones del Centro de Investigaciones Biotecnológicas de la Universidad Estatal Península de Santa Elena (CEB-UPSE), ubicado en la Facultad de Ciencias Agrarias, cantón La Libertad provincia de Santa Elena, vía principal Guayaquil-La Libertad, a 27 km del cantón Santa Elena, sus coordenadas geográficas son: latitud Sur 2°14'6", longitud Oeste 80°54'9" y en el Centro de Apoyo Manglaralto-UPSE ubicado en la parroquia Manglaralto del cantón Santa Elena-provincia de Santa Elena, con las coordenadas geográficas 01°50'29" latitud sur y 80°44'24" longitud oeste, donde se colectaron las muestras de las leguminosas a trabajar (Prudente, 2023).

2.2 Condiciones edafoclimáticas de Manglaralto

2.2.1 Clima de Manglaralto

El clima de Manglaralto se clasifica como Aw por el sistema Köppen-Geiger; como cálido o caluroso durante todo el año, la vegetación consiste principalmente en pastos y arbustos que forman parte del bosque seco. La temperatura media anual es 20 °C, las temperaturas son más altas en marzo con un promedio de 25.3 °C; el mes agosto es considerado el más frío, con temperaturas promediando 21.5 °C (Perero, 2024).

2.2.2 Suelo de Manglaralto

Según Pita (2021), el Centro de Apoyo Manglaralto posee un total de 22.34 ha, y presenta suelos tipo Tierras misceláneas y *Fluventic Eutrudepts*, siendo este último el de mayor predominancia espacial. Las tierras misceláneas no son consideradas como unidades de suelo; en cambio, los suelos *Fluventic Eutrudepts*, presentan características agro-productivas, como suelos francos en superficie y francos arcillosos a profundidad, buen drenaje, pH ligeramente alcalino y fertilidad alta.

Las muestras de la rizosfera de leguminosas recolectadas en Manglaralto fueron enviadas al Laboratorio de Suelos, Tejidos Vegetales y Aguas para su análisis correspondiente (Anexo 1 y 2). Según Pita (2021), el suelo de esta región presenta una textura franco-arcillosa y contiene un 4.4% de materia orgánica.

2.3 Material biológico y condiciones experimentales

El trabajo fue organizado en dos fases, una de campo donde las muestras de suelo (rizosférico) fueron colectadas de cultivos de leguminosas previamente establecidos en el

área agrícola y forrajera del Centro de Apoyo Manglaralto seguido de la fase posterior de laboratorio en el CEB-UPSE.

2.3.1 Características de las leguminosas en estudio

Se seleccionaron tres plantas al azar por cada cultivo *P. lanatus*, *C. ternatae* y *A. pintoii*, donde se extrajeron las respectivas muestras de suelo, estos cultivos están situados en el sector agrícola y forrajero del centro de apoyo Manglaralto, con un área aproximada de 15 m² por parcela, constando con sistema de riego por aspersión a excepción del cultivo *P. lanatus*. que posee un sistema de riego por goteo con un área aproximado de 75 m².

2.4 Materiales, equipos y reactivos

2.4.1 Material de campo para recolecta de muestras

Los materiales que se utilizaron para la respectiva investigación de campo fueron las siguientes:

- Fundas Ziploc
- Pala de jardinería
- Pala excavadora doble
- Machete
- Marcador para CD
- Cámara fotográfica

2.4.2 Material de laboratorio

Para realizar el análisis microbiológico del suelo se utilizaron los siguientes implementos:

- Guantes
- Mandil
- Mascarilla
- Muestra de suelo
- Cajas Petri
- Agua destilada
- Alcohol
- Libreta de apuntes
- Espátula

- Pipeta
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Mechero
- Tubos de ensayo
- Vaso Beaker
- Cinta Parafilm
- Asa de platino

2.4.3 Equipos de laboratorio

- Refrigerador
- Contador de colonias
- Autoclave
- Incubadora
- Microscopio
- Cámara de flujo laminar
- Balanza
- Plancha agitadora-calentadora

2.4.4 Insumos y reactivos

- Potato Dextrose Agar
- Extracto de levadura
- Mannitol
- Bacto Agar
- NaCl
- Agua destilada
- K_2HPO_4
- $MgSO_4$
- H_2O_2
- Reactivos para tinción de Gram
- Azul de lactofenol
- Rojo Congo

2.5 Tipo de investigación

Esta propuesta de investigación es experimental descriptiva ya que se colectan datos en un momento temporal, dado que busca aislar e identificar los microorganismos presentes en la rizosfera de las leguminosas en el Centro de Apoyo Manglaralto. La recolección de muestras de suelo en cultivo permite establecer un perfil microbiológico sin manipular las variables del entorno natural (Soto, 2020).

2.6 Diseño de investigación

2.6.1 Diseño experimental

Este estudio en campo y laboratorio incluye un muestreo aleatorio para garantizar que las muestras sean representativas de la diversidad de microorganismos en la rizosfera de las leguminosas. En el laboratorio se emplearán técnicas microbiológicas, como aislamiento en medios de cultivos selectivos, diluciones seriadas e identificación por microscopía; para su posterior caracterización, donde se considerará a cada placa Petri como una unidad experimental con tres repeticiones; por lo tanto, no tiene diseño experimental.

2.7 Manejo del experimento

2.7.1 Fase de campo

2.7.1.1 Muestreo de suelo

Se realizaron muestreos de suelo de tres leguminosas cultivadas en el Centro de Apoyo Manglaralto, para la correlación de los microorganismos presentes, se recorrió el área destinada a cultivos y forrajes, lugar donde se colectaron las plantas seleccionadas al azar, alrededor del sistema radicular.

2.7.1.2 Muestreo de suelo rizosférico

En la recolección de las muestras, se eliminó el material vegetativo no atribuible a la planta objeto de estudio, consecutivamente del suelo rizosférico se tomó las muestras alrededor de las tres plantas equidistantes seleccionadas al azar utilizando una pala para la colecta a una profundidad de 0-25 cm. Se colectaron cuatro submuestras de suelo en cada leguminosa seleccionada en su respectiva parcela. Se mezclaron las submuestras colectadas para obtener una muestra compuesta de 1kg, como se muestra en la Tabla 1. Las muestras se recolectaron en fundas Ziploc rotuladas como correspondía y transportadas al laboratorio de Ciencias Químicas y microbiológicas del CEB-UPSE.

Tabla 1. Plan de colecta de submuestras y muestras de cada leguminosa en el centro de apoyo Manglaralto-UPSE.

CULTIVO	PARCELA	PLANTA	SUBMUESTRAS	MUESTRAS COMPUESTAS
Maní forrajero	P1	PT1	4	MC1
		PT2		MC2
		PT3		MC3
Conchita azul	P2	PT1		MC1
		PT2		MC2
		PT3		MC3
Frijol pallar	P3	PT1		MC1
		PT2		MC2
		PT3		MC3

2.7.1.3 Fase de laboratorio

Se inició empleando los respectivos materiales, reactivos y equipos para el análisis microbiológico del suelo, mediante medios de cultivo para aislar posibles bacterias tipo PGPR y hongos, utilizando un contador de colonia para cuantificar los aislados de cada caja Petri y la utilización de reactivos para las pruebas bioquímicas.

2.7.2 Almacenamiento y conservación de las muestras

Perero (2024) menciona que, las muestras de suelo se dejan a secar al aire libre, por aproximadamente 24 horas, con el fin de interrumpir los procesos biológicos y para su almacenamiento se utilizó la refrigeración (4°C), conservando las muestras para su posterior aislamiento y cuantificación de microorganismos.

2.7.3 Esterilización de materiales

Los materiales y medios de cultivo utilizados se colocaron en la autoclave, a una temperatura de 121°C por 45 minutos con la finalidad de lograr trabajar con implementos que estén libre de contaminación del exterior.

2.7.4 Preparación de muestras para aislar microorganismos

Acorde a Zuñiga-Davila (2012), para la preparación de muestras de los microorganismos, se pesaron 10 gr de suelo por cada kg de muestra, después se colocó en un beaker o matraz los 10 g de suelo en 90 mL de solución salina (SS) al 0,85% (muestra madre), se repitió el proceso con las demás muestras de los sitios y leguminosas colectadas. Luego, se elaboraron diluciones seriadas en tubos de ensayo por triplicado 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} . Tomando 1 mL de la solución madre (10^{-1}), que se deposita en un tubo de ensayo con 9 mL (SS al 0,85%); repitiendo el proceso hasta la dilución 10^{-5} (Figura 1).

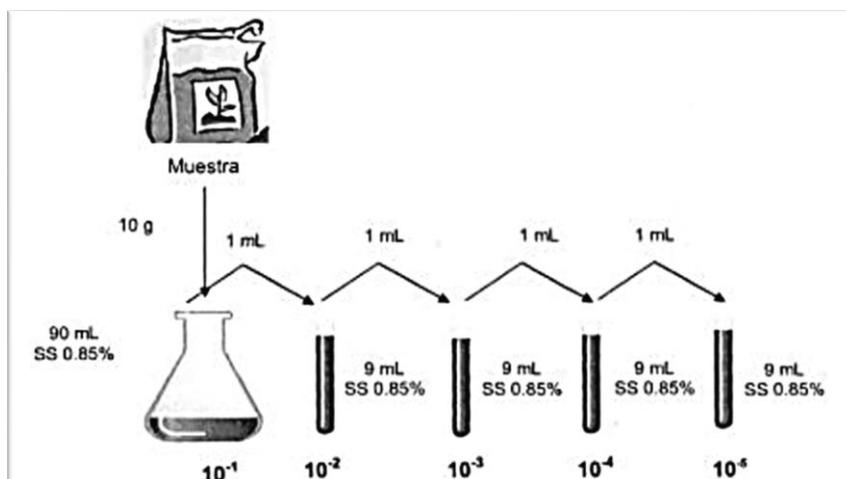


Figura 1. Procedimiento de la preparación de diluciones para el recuento de microorganismos.

Fuente: Zúñiga-Dávila (2012).

2.7.5 Procedimiento de preparación de medio de cultivo

2.7.5.1 Preparación medio de cultivo Potato Dextrose Agar (PDA)

Niquinga (2016) menciona que, el PDA es un medio empleado para aislar todo tipo de microhongos, y a su vez para realizar el conteo presente en las muestras. Por lo que se preparó la relación de 39 g de PDA por cada 1.000 mL de agua destilada.

2.7.5.2 Preparación medio de cultivo (LMA)

Se utilizó el medio de cultivo extracto de levadura manitol agar (LMA) para el aislamiento de bacterias rizosféricas, se preparó en un matraz de 1000 mL. Se pesaron 10 g de Mannitol, 0.50 g Extracto de levadura, 0.50 g de K_2HPO_4 , 0.20 NaCl, 15 g de Bacto Agar y 0.10 $MgSO_4$; estos insumos se disolvieron en 1000 mL de agua destilada. Luego, se realizó la homogenización y esterilización del medio preparado (Perero, 2024).

2.7.6 Siembra de microorganismo en cajas Petri

Se dispensaron aproximadamente 12 mL del medio de cultivo en cada caja Petri con su respectiva rotulación y código. Se aplicaron 100 microlitros de las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} de cada muestra en cada caja Petri, con tres repeticiones. Los microorganismos se distribuyeron homogéneamente en el medio de cultivo utilizando la técnica de siembra en estría con asa de cultivo. Este procedimiento se repitió tres veces tanto para las bacterias como para los hongos, como se detalla en la tabla 2.

Tabla 2. Esquema de diluciones y repeticiones.

CULTIVO	PARCELA	MUESTRA	DILUCIONES	REPETICIONES
Maní forrajero	P1	M1	T1- 10^{-3}	3
			T2- 10^{-4}	
			T3- 10^{-5}	
		M2	T2- 10^{-3}	
			T3- 10^{-4}	
			T4- 10^{-5}	
		M3	T2- 10^{-3}	
			T3- 10^{-4}	
			T4- 10^{-5}	
Conchita azul	P2	M1	T2- 10^{-3}	3
			T3- 10^{-4}	
			T4- 10^{-5}	
		M2	T2- 10^{-3}	
			T3- 10^{-4}	
			T4- 10^{-5}	
		M3	T2- 10^{-3}	
			T3- 10^{-4}	
			T4- 10^{-5}	
Frijol pallar	P3	M1	T2- 10^{-3}	3
			T3- 10^{-4}	
			T4- 10^{-5}	
		M2	T2- 10^{-3}	
			T3- 10^{-4}	
			T4- 10^{-5}	
		M3	T2- 10^{-3}	
			T3- 10^{-4}	
			T4- 10^{-5}	

2.7.7 Incubación para el crecimiento de microhongos y bacterias

Las diluciones inoculadas en las cajas Petri fueron incubadas a una temperatura de 28 °C, lo que proporciona condiciones óptimas para el crecimiento de los microorganismos. Este proceso se llevó a cabo durante un período de cinco a siete días, con el objetivo de evaluar la proliferación de las colonias mediante el conteo correspondiente.

2.7.8 Pruebas para la identificación morfológica de microhongos y bacterias

2.7.8.1 Tinción de Gram

Se realizó el frotis de cada colonia bacteriana aislada para luego fijarla con la flama y cubrir con cristal violeta durante 1 minuto, se lavó ligeramente con agua destilada para cubrir con Lugol durante 1 minuto; a continuación se decoloró con alcohol por 30 segundos volviendo a lavar con agua destilada cubriendo con safranina durante 1 minuto, para finalmente secar la muestra y observar al microscopio, es muy conocido que la mayoría de bacterias tipo PGPR son Gram positivas (Quinzo, 2022).

2.7.8.2 Catalasa

Quinzo (2022) describe que, se realizó el frotis de una colonia aislada sobre un portaobjetos, adicionando entre una o dos gotas de peróxido de hidrógeno, para lograr observar la presencia o ausencia de efervescencia que confirma la existencia de esta enzima.

2.7.8.3 Azul de lactofenol

Las muestras obtenidas del cultivo de microhongos se colocaron en un portaobjeto con el asa de siembra esterilizada con un mechero, se colocó una gota de azul de lactofenol para la tinción, luego se montó un cubreobjeto en la platina del microscopio y se observó con los objetivos 4, 10, 40 y 100X (Cepero et al., 2012).

Para identificar los hongos se empleó el objetivo 100X, utilizando el reactivo azul de lactofenol y luego comparados con las claves taxonómicas.

2.8 Parámetros a evaluar

2.8.1 Cuantificación de microorganismos expresados UFC/g suelo seco

Se evaluó el crecimiento de los microorganismos en los medios de cultivos específicos, empleando el contador de colonias para lograr cuantificarlas, acorde a Zúñiga-Dávila (2012).

2.8.2 Morfología de microorganismos

2.8.2.1 Tinción de Gram

Se observó en el microscopio con objetivos de 40 X y 100 X distinguiendo la coloración de las bacterias Grampositivas (morado) y gramnegativas (rosado), evaluando en porcentaje; también se registró la forma o morfología de cada una de las cepas aisladas.

2.8.2.2 Catalasa

Se observó la presencia de efervescencia de la enzima catalasa de cada bacteria aislada. Si la reacción de esta prueba es positiva se evaluó en base a la cantidad de efervescencia producida (MP: Muy poco; P: Poco; AB: Abundante; MA: Muy abundante).

2.8.2.3 Uso de claves taxonómicas y tecnología IA

Se emplearon las claves taxonómicas Finch y Flinch (1974) para identificar las cepas de microhongos aisladas. Adicionalmente, con las imágenes obtenidas se empleó el programa de inteligencia artificial ChatGPT (<https://chatgpt.com/>), para confirmar resultados.

2.9 Análisis de los resultados

Los resultados de los conteos de las colonias obtenidas (microhongos y bacterias) se procesaron en una hoja de cálculo de Excel (Microsoft) para calcular los promedios de las unidades formadoras de colonias (UFC/g suelo seco) y a partir de esta información se elaboraron tablas y gráficos.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis de suelo

Las características del suelo en las parcelas del Centro de Apoyo Manglaralto revelan una textura franco-arcillosa, con un pH neutro de 7.3 en el área agrícola y 7.5 en el área forrajera. El porcentaje de materia orgánica se sitúa en 4.4%, mientras que ambos sectores presentan niveles medios de nitrógeno (N) y fósforo (P), y altos niveles de potasio (K), calcio (Ca) y magnesio (Mg), presentados en la Tabla 3. Estos resultados son coherentes con los hallazgos de Granado (2021), quien destaca la relevancia del pH y la materia orgánica en la fertilidad del suelo y su efecto en el rendimiento agrícola. Además, el estudio indica que los niveles medios de nitrógeno y fósforo son adecuados para el mantenimiento de las plantas, lo cual concuerda con los datos obtenidos en Manglaralto. La presencia de altos niveles de potasio, calcio y magnesio en el suelo favorece el crecimiento vegetal, contribuyendo a procesos fisiológicos esenciales para el desarrollo de las plantas.

Tabla 3. Valores del análisis del suelo obtenidas del área de leguminosas.

Características del suelo	Agrícola	Forrajera
Textura	Franco-Arcillosa	Franco-Arcillosa
MO%	4.4 M	4.4 M
pH	7.3 PN	7.5 PN
Nivel de N (ppm)	16 M	16 M
Nivel de P (ppm)	16 M	13 M
Nivel de K (meq/100mL)	3.4 A	3.69 A
Nivel de Ca (meq/100mL)	22.12 A	20.80 A
Nivel de Mg (meq/100mL)	3.83 A	3.69 A

Medio (M), prácticamente Neutro (PN), Medio (M) y Alto (A)

3.2 Cuantificación de bacterias rizosféricas aisladas de cultivos de leguminosas

Los resultados de la cuantificación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de bacterias en tres especies de leguminosas (*A. pintoii*, *C. ternatea* y *P. lunatus*) a partir de diferentes muestras de suelo (M1, M2, M3) proporcionan información valiosa sobre la microbiota asociada a estas plantas, en la Figura 2 se presentan los resultados.

De manera general, el conteo de las rizobacterias fue mayor en el cultivo *A. pintoi* con 269.11, seguido de *P. lunatus* con 140.22 y el más bajo con 25.33 en *C. ternatea*, respectivamente. La muestra con mayor conteo fue evidenciada en la M2, con 292.67 UFC/g suelo seco, en *A. pintoi*. En contraste, en los cultivos de *P. lunatus* con 130 y de *C. ternatea* con 21.67 en la M3.

La literatura indica que la diversidad y abundancia de microorganismos en la rizosfera de leguminosas están influenciadas por la capacidad de las plantas para secretar exudados radiculares que atraen a ciertos grupos microbianos.

Prudente (2023) menciona que, *C. ternatea* produce menos exudados o compuestos que favorezcan el crecimiento bacteriano en comparación con otras leguminosas, esto podría explicar los bajos recuentos de UFC observados en este trabajo.

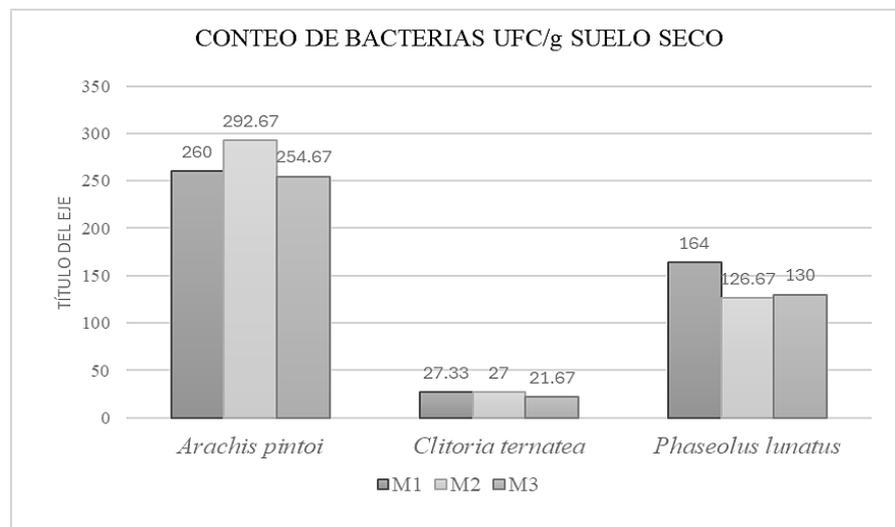


Figura 2. Promedios de colonias bacterianas rizosféricas UFC/g suelo seco.

3.3 Cuantificación de microhongos aisladas de cultivos de leguminosas

A partir de las muestras de los cultivos de leguminosas se aislaron microhongos rizosféricos, expresados en UFC/g suelo seco. El cultivo *A. pintoi* presentó los conteos más altos, alcanzando 44.67 en la M1, seguido de la M2 y M3 con promedio de 41.00; por otra parte, el cultivo de *C. ternatea* mostró el conteo más bajo de microhongos, con un máximo de 12.00 en la M2 y un mínimo de 9.67 en la M1. En comparación al *P. lunatus* que presentó un máximo de 8.00 microhongos en M3, como se observa en la Figura 3.

En un estudio reciente realizado por Saavedra *et al.* (2024), indica que las leguminosas exhiben una alta capacidad de micorrización debido a su habilidad para colonizar las raíces y aumentar la población de esporas en el suelo. Este fenómeno puede explicar el alto conteo de microhongos en *A. pintoi*, a diferencia de las otras leguminosas.

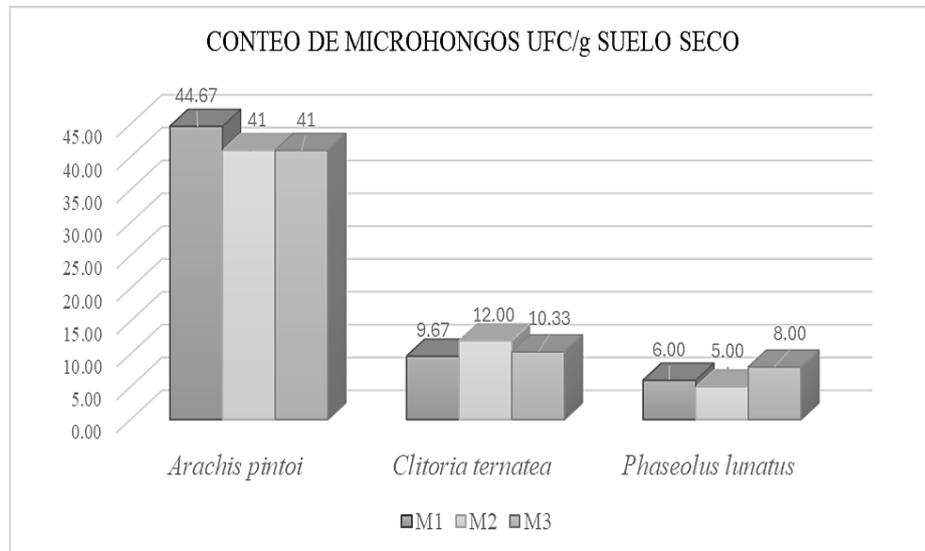


Figura 3. Promedios de la cuantificación de colonias de microhongos UFC/g suelo seco.

3.4 Crecimiento de microorganismos rizosféricos, en valores de pH y materia orgánica.

Varios investigadores mencionan que, la relación entre el pH, materia orgánica (MO) y los promedios obtenidos en la cuantificación de microorganismos puede explicarse a través de la influencia de estos factores en la actividad microbiana del suelo. Según Córdova *et al.* (2018), un pH adecuado favorece las reacciones químicas necesarias para la mineralización de nutrientes, lo que promueve el crecimiento microbiano.

Zambrano (2012) menciona que, la MO actúa como un reservorio de nutrientes y mejora la estructura del suelo, lo que favorece el desarrollo de las diversas comunidades microbianas; lo cual podría explicar los promedios obtenidos en los cultivos de *A. pintoi* y *P. lunatus*. Por otro lado, el menor promedio obtenido en *Clitoria ternatea* podría indicar una menor capacidad para atraer microorganismos o una menor actividad microbiana en su entorno rizosférico, como se muestra en las Figuras 4 y 5. Los rizobios de leguminosas del género *Clitoria* han sido relativamente poco estudiados y hasta la fecha no existen reportes sobre sus simbiontes asociados.

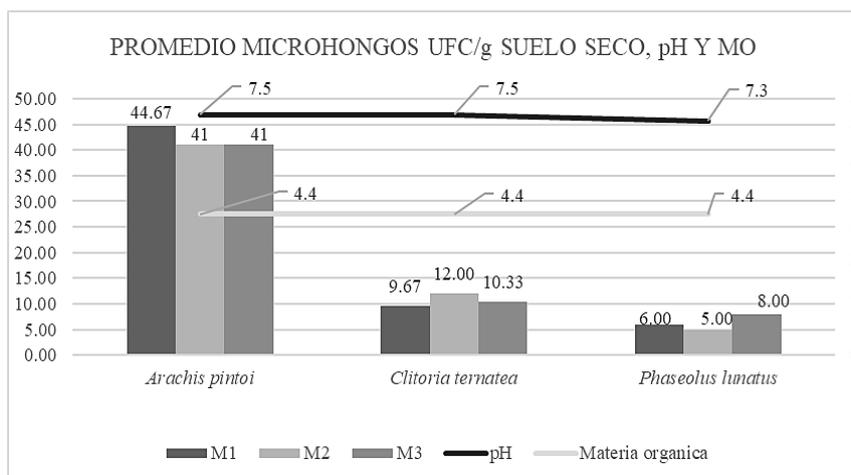


Figura 4. Relación promedios de bacterias rizosféricas UFC/g suelo seco, MO y pH.

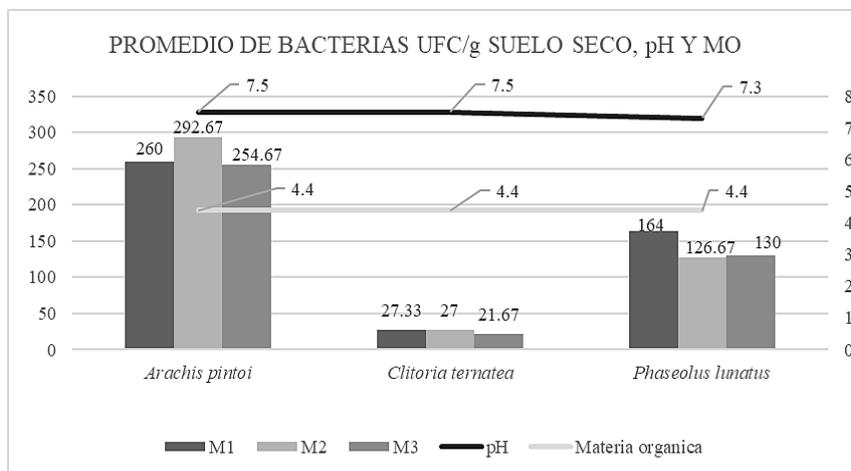


Figura 5. Relación promedios de microhongos rizosféricos UFC/g suelo seco, MO y pH.

3.5 Aislamiento de cepas bacterianas

Los resultados del aislamiento de bacterias rizosféricas en los tres cultivos de leguminosas muestran que *P. lunatus* presenta el mayor conteo con once aislados (41%), seguido de *A. pintoii* con nueve (33%) y *C. ternatea* con siete (26%), como se observa en la Figura 6. La predominancia de aislados de *P. lunatus* podría indicar que este cultivo crea un ambiente favorable para la colonización microbiana en comparación con *Clitoria* y *Arachis* que mostraron un conteo más bajo, a diferencia de la investigación de Mulford et al. (2012), el cual presenta valores mayores en cultivos forrajeros. Según Ramos et al. (2023), la capacidad de *P. lunatus* para establecer relaciones simbióticas efectivas con microorganismos del suelo podría ser un factor determinante en su mayor conteo de aislados, ya que estas interacciones son fundamentales para maximizar el rendimiento agrícola y la salud del suelo.

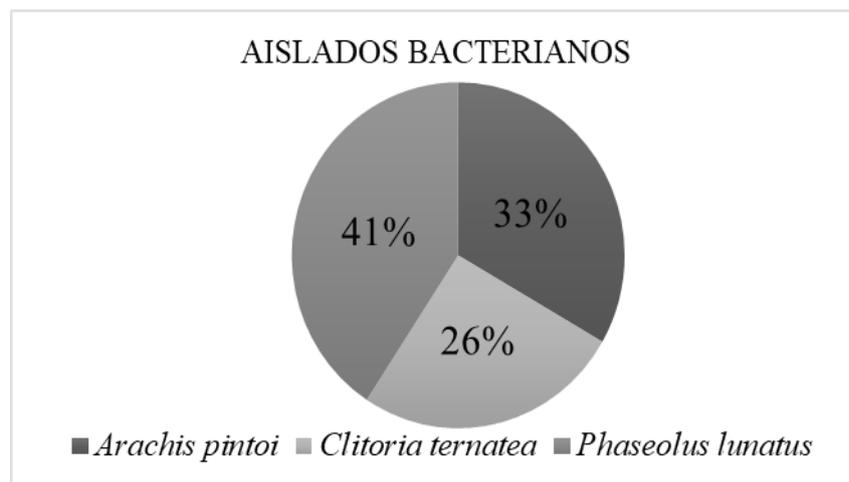


Figura 6. Porcentajes de aislados bacterianos de la rizosfera de leguminosas procedentes del centro de Apoyo Manglaralto.

3.6 Identificación y caracterización morfo-bioquímicas de aislados bacteriano

Los resultados obtenidos en este trabajo mediante la observación macro y microscópicas de las cepas bacterianas aisladas se muestran en la Tabla 4. Las características morfológicas observadas en los aislados revelaron una notable diversidad en la textura y apariencia.

Tabla 4. Caracterización fenotípica y bioquímica de cepas rizosféricas en leguminosas.

Código	Características morfológicas	Gram	Forma	Catalasa
MAP103R1A	TMG	+	bacilos	MP
MAP103R3A	TML	-	bacilos	MA
MAP104R2A	BQMM	-	cocobacilos	P
MAP104R2B	BL	+	bacilos	MA
MAP104R2C	TL	+	cocobacilos	MP
MAP104R3A	TG	-	cocos	P
MAP105R1A	BQML	-	cocos	MA
MAP105R3A	BQG	+	cocos	MA
MAP105R3B	BG	+	cocos	AB
MCT103R1A	TM	-	cocos	MP
MCT103R3A	TG	+	cocos	P
MCT103R3B	BQML	+	estreptococos	MA
MCT105R1A	TMM	+	cocos	MP
MCT105R3A	BG	-	cocos	AB
MCT105R3B	AG	+	cocos	P
MCT105R3C	BQG	+	bacilos	M
MFP103R1A	TG	+	bacilos	MA
MFP103R2A	MG	+	cocos	MA
MFP103R3A	BG	+	cocos	MA
MFP103R3B	BQG	-	cocos	P
MFP104R1A	AG	+	cocobacilos	MA
MFP104R1B	BQMM	+	bacilos	MP
MFP104R2A	BL	+	cocos	P
MFP104R2B	AL	+	cocos	AB
MFP104R3B	TL	+	cocos	MP
MFP105R1A	BM	+	bacilos	P
MFP105R2A	BQM	+	cocos	MP

Transparente muy gomosa (TMG), Transparente muy ligosa (TML), Transparente muy mucosa (TMM), Blanquecina muy gomosa (BQMG), Blanquecina muy ligosa (BQML), Blanquecina muy mucosa (BQMM), Blanquecina gomosa (BQG), Blanquecina mucosa (MQM), Transparente gomosa (TL), Transparente ligosa (TL), Transparente mucosa (TM), Blanca gomosa (BG), Blanca ligosa (BL), Blanca mucosa (BM), Amarilla gomosa (AG), Amarilla ligosa (AL); Positivo (+), Negativo (-); Muy Poco (MP), Poco (P), Abundante (AB), Muy Abundante (MA)

Se identificaron varias muestras con características blanquecinas y gomosas, siendo las más frecuentes las que presentaban una textura blanquecina gomosa, transparente gomosa y blanca gomosa. Estas características coinciden con lo señalado por Sosa *et al.* (2004) donde menciona que los rizobios se caracterizan por ser blancas, blanquecinas o ligeramente rosadas ya que estas no absorben el Rojo Congo. Otras características como blanquecina muy mucosa y amarilla gomosa también se observaron, aunque en menor cantidad.

La tinción de Gram mostró que un 66.7% de las muestras analizadas eran Gram positivas, mientras que el 33.3% resultó ser Gram negativo, dando a conocer que en la rizosfera de las leguminosas estudiadas predominan las bacterias Gram positivas. En base a lo expresado por Sosa *et al.* (2004), la tinción de Gram no es definitiva, pero sí un medio para comprobar las características tintoriales de los rizobios. En cuanto a la forma de los microorganismos, se observó que los cocos fueron los más abundantes, representando el 55.6% del total de muestras analizadas. En comparación a los bacilos y cocobacilos que se presentan en menor frecuencia. Flores y Vargas (2014), destacan que las bacterias presentan variaciones morfológicas, clasificándose en formas de cocos, bacilos y espirilos, lo que puede influir en la textura y apariencia observadas como UFC/g suelo seco en las muestras analizadas.

La distribución de los resultados muestran una predominancia de microorganismos con actividad catalásica clasificados como "muy abundante" (MA) y "abundante" (AB), en un estudio realizado por Jiménez *et al.* (2020) indica que, las rizobacterias asociadas a leguminosas presentan una alta actividad catalásica, lo que sugiere su capacidad para descomponer peróxido de hidrógeno y contribuir al metabolismo de las plantas. Así mismo Morocho y Mora (2019), destacan que la actividad catalásica en microorganismos de la rizosfera está asociada con la capacidad de estas bacterias para mejorar la asimilación de nutrientes.

3.7 Identificación de mohos

Los aislados fúngicos realizados a las leguminosas (*A. pintoi*, *C. ternatea* y *P. lunatus*) revelaron la predominancia del género *Aspergillus sp.*, donde se registraron 18 cepas: cinco para *A. pintoi* (*Aspergillus sp.*), siete para *C. ternatea* (*Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*), y seis para *P. lunatus* (*Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* y *Rhizopus sp.*), como se observa en la Figura 7, 8 y 9 (Anexo 5). En conjunto, los resultados indican que la

rizosfera de estas leguminosas alberga una comunidad microbiana diversa, lo que puede tener implicaciones positivas para la salud del suelo y el crecimiento de las plantas, estos hallazgos subrayan la importancia de considerar los microorganismos rizosféricos. Este hallazgo concuerda con Pereira (2014), quien indican que *Aspergillus* actúa como biocontrolador, supliendo patógenos en el suelo y promoviendo un entorno más favorable para el crecimiento vegetal. Además, Martín (2023) enfatiza que la identificación de otros géneros como *Penicillium* y *Rhizopus* también es relevante ya que la diversidad microbiana está influenciada por las características de cada planta, reforzando la importancia de las interacciones entre raíces y microorganismos.

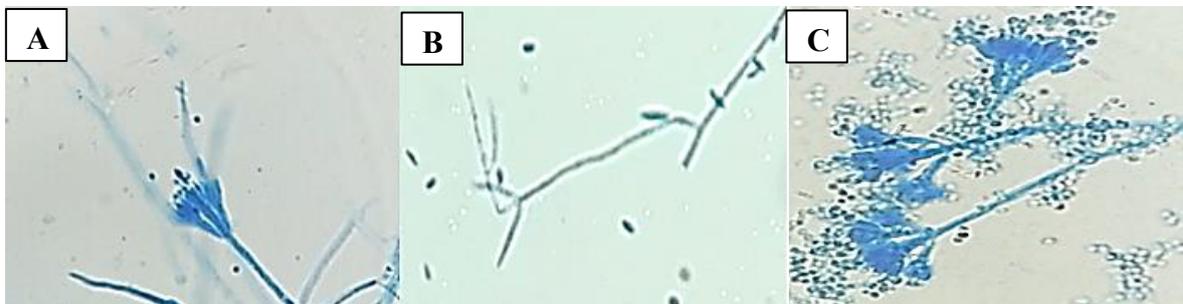


Figura 7. Microhongos aislados de *Arachis pintoi*: *Aspergillus* sp. A, B y C.



Figura 8. Microhongos aislados de *Clitoria ternatea*: *Aspergillus* sp A y B, *Penicillium* sp. C.



Figura 9. Microhongos aislados de *Phaseolus lunatus*: *Aspergillus* sp A, *Penicillium* sp B, *Rhizopus* sp. C.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

La identificación de microorganismos en la rizosfera de las leguminosas seleccionadas ha revelado parte de la diversidad microbiana, especialmente de bacterias y microhongos que desempeñan funciones vitales en el ecosistema del suelo. Las técnicas morfo-bioquímicas utilizadas han demostrado ser efectivas para aislar y caracterizar estos microorganismos.

Se aislaron cepas de microorganismos de la rizosfera de las leguminosas *Arachis pintoi*, *Clitoria ternatea* y *Phaseolus lunatus*, proceso que permitió identificar y obtener microorganismos rizosféricos que pueden ser beneficiosos para el estudio de la interacción entre plantas y microorganismos.

La cuantificación e identificación de las rizobacterias y hongos realizada podría revelar una probable interacción entre los microorganismos con las planta y parámetros del suelo. Lo cual, también permitiría en un futuro próximo emplearlos como bioinsumos.

Se identificaron 18 cepas fúngicas y 27 cepas bacterianas presentes en las muestras de los cultivos de leguminosas, destacando la presencia de diversas bacterias con características denominadas PGPR y microhongos, entre los que se incluyen *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* y *Rhizopus sp.*

Recomendaciones

A partir de los resultados del estudio realizado se recomienda lo siguiente:

- Se sugiere llevar a cabo pruebas bioquímicas y moleculares adicionales para identificar y tipificar las cepas microbianas aisladas en este trabajo.
- Llevar a cabo investigaciones utilizando una variedad de otros medios de cultivo nutritivos para el aislamiento de otros grupos microbianos como los actinomicetos.
- Realizar pruebas para evaluar el potencial de estas cepas como bioinoculantes a nivel invitro y campo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, E. (2017) 'La interacción leguminosa-rhizobia, su importancia en el ambiente - VA POR LA TIERRA', 18 July. Available at: <https://vaporlatierra.com/2017/la-interaccion-leguminosa-rhizobia-su-importancia-en-el-ambiente/> (Accessed: 23 December 2023).
- Alay, F.A.D. (2017) *Análisis del maní forrajero (Arachis Pintoi) como suplemento alimenticio en la cría de pollos finquero*. UNIVERSIDAD ESTATAL DEL SUR DE MANABÍ "UNESUM". Available at: <https://repositorio.unesum.edu.ec/bitstream/53000/692/1/UNESUM.ECU-AGROPE-2017-05.pdf> (Accessed: 1 December 2023).
- Alexander, M. (2010) *Introducción a la Microbiología del suelo*. Segunda Edición. Mexico: S.A.
- Bahena, M.H.R. *et al.* (2016) 'Historia de la investigación en la simbiosis leguminosa-bacteria: una perspectiva didáctica', *Arbor*, 192(779), pp. a319–a319. Available at: <https://doi.org/10.3989/arbor.2016.779n3009>.
- Benintende, S. and Sánchez, C. (2000) 'Microorganismos del suelo.' Available at: http://www2.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/microbiologia/parte_de_unidad_des_10_y_11_microorganismos_del_suelo.pdf (Accessed: 23 December 2023).
- Bridge, P. (2002). "Técnicas bioquímicas y moleculares". En: Waller, J.M., Lenne, J. M. y Waller, S. J. (eds.), *Planta Bolsillo del patólogo*. 3Rd ed. (págs. 229-244). Wallingford, Reino Unido: CAB Internationa
- Castillo, S.A. (2021) *CULTIVOS PARA EL CAMBIO CLIMÁTICO SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE VARIEDADES DE JUDIA (Phaseolus vulgaris L.) Y Phaseolus lunatus TOLERANTES A LA SEQUÍA Y SALINIDAD*. Universidad Politecnica De Valencia. Available at: https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/168450/Arteaga_Castillo_Sugenith_Margarita_Tesis.pdf?sequence=6.
- Cevallos, Y.E.B. and Viracucho, J.K.V. (2018) *CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA PROVENIENTES DE SUELOS DE LOS CANTONES QUITO Y RUMIÑAHUI*. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO. Available at: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16074/1/UPS-QT13247.pdf> (Accessed: 1 December 2023).
- Clavijo, C. *et al.* (2012) 'Aislamiento, caracterización e identificación de bacterias diazotróficas de la rizósfera del cultivo de Olea europea "olivo" en Tacna Perú', *Ecología Aplicada*, 11(2), pp. 89–102.
- Coello, M.L.S. and Aragón, L.A.P. (2020) *(Brachiaria decumbens), Y MANI FORRAJERO (Arachis pintoi) BAJO DIFERENTES DOSIS DE ABONO ORGÁNICO EN EL CIPCA*. UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA. Available at: <http://201.159.223.17/bitstream/123456789/734/1/T.AGROP.B.UEA.1159.pdf>.
- Contreras, D.L.Á.S. *et al.* (2017) 'QueSonMicrobios.pdf', pp. 10–16.
- Córdova, D.G. *et al.* (2018) 'Un hábitat de bacterias productoras de hormonas y antibióticos', *Ciencia UNAM*, 5 December. Available at: <https://ciencia.unam.mx/leer/817/hoy-es-el-dia-mundial->

del-suelo-un-habitat-de-bacterias-productoras-de-hormonas-y-antibioticos (Accessed: 4 November 2024).

- Correa, O. (2013) 'LOS MICROORGANISMOS DEL SUELO Y SU ROL INDISCUTIDO EN LA NUTRICIÓN VEGETAL', in *APORTES DE LA MICROBIOLOGÍA A LA PRODUCCIÓN DE LOS CULTIVOS*. 1ra Edición. Buenos Aires: Editorial de la Facultad de Agronomía, p. 11. Available at: https://www.researchgate.net/publication/306960003_LOS_MICROORGANISMOS_DEL_SUELO_Y_SU_ROL_INDISCUTIDO_EN_LA_NUTRICION_VEGETAL.
- Dolatabadian, A. (2021) 'Plant–Microbe Interaction', *Biology*, 10(1), p. 15. Available at: <https://doi.org/10.3390/biology10010015>.
- Estrada, C.N.M. Y Zapata, J.C. (2009) Microorganismos asociados con granos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), variedad Cargamanto', p. 94.
- Flores, T.V. and Vargas, A.K. (2014) 'MORFOLOGIA BACTERIANA', 49(2), pp. 2594–2598.
- García, I. E. (2011). Microorganismos del suelo y sustentabilidad de los agroecosistemas. *Revista Argentina de Microbiología*, 43(1), 1-3
- García López, P.J. (2023) *Aislamiento e Identificación de Hongos y Bacterias de la Rizosfera de Plantas Aromáticas*. Universidad Politécnica de Cartagena. Available at: <https://repositorio.upct.es/bitstream/handle/10317/12916/tfg-jor-ais.pdf?sequence=1> (Accessed: 22 December 2023).
- Garófalo, X.R. (2019) *Los 7 tipos de microorganismos (y sus características)*. Available at: <https://azsalud.com/ciencia/tipos-de-microorganismos> (Accessed: 1 December 2023).
- Gelvez L. (2021) *Mani forrajero - Arachis pintoi - Leguminosas*. Available at: https://mundopecuario.com/tema192/leguminosas/mani_forrajero-1087.html (Accessed: 1 December 2023).
- Gómez T.N (2024) *Estado físico, químico y microbiológico del suelo en el cultivo de café Coffea arabica L. en Manglaralto y Colonche, provincia de Santa Elena*. bachelorThesis. La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2024. Available at: <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/12063> (Accessed: 18 October 2024).
- Gonzalez (2020) 'Campanita (*Clitoria ternatea*) - Leguminosa Forrajera', *Pastos y Forrajees*, 16 August. Available at: <https://infopastosyforrajees.com/leguminosas/campanita/> (Accessed: 1 December 2023).
- Granado, J.M.R. (2021) *COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO DEL PASTO KING*. UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA. Available at: <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/6519/1/UPSE-TIA-2021-0131.pdf>.
- Hernández, J.R. (2014) 'Microbiología: Morfología de Hongos', *Microbiología*, 25 November. Available at: <https://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/11/morfologia-de-hongos.html> (Accessed: 22 December 2023).

- Hernández, J.R. (2017) *Caracterización microbiana, issuu*. Available at: https://issuu.com/jazinaruizhernandez/docs/unidad_3._caracterizacion_microbian (Accessed: 27 November 2023).
- Jácome, L.E.L. *et al.* (2014) 'Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología', 3(1), pp. 10–18.
- Jiménez, A.V. *et al.* (2020) 'Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura', *Terra Latinoamericana*, 38(2), pp. 333–345. Available at: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>.
- Karel (2014) *Descripción de flores del género Clitoria (Conchita azul), Naturaleza Tropical*. Available at: <https://naturalezatropical.com/fotos-y-descripcion-de-flores-del-genero-clitoria/> (Accessed: 1 December 2023).
- Llerena, M.S. (2005) *SUSTITUCIÓN PARCIAL DE LAS HARINAS DE TRIGO POR PALLAR (Phaseolus lunatus L.) EN LA ELABORACIÓN DE QUEQUE BASE*. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO. Available at: https://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/3011/Saldarriaga%20Llerena_titulo%20alimentos_2005.pdf.
- Madigan, M., Martinko, J. and ParKer, J. (2004) 'microbiología - biología de los microorganismos (Brock) - madigan, martinko y parker - 10ed.pdf', in *biología de los microorganismos*. decima. Available at: https://drive.google.com/file/d/0B3i4iMpIY5O1VXd4RnN1MUNiClk/view?usp=embed_facebook (Accessed: 23 December 2023).
- Martín, D.N.M. (2023) *El microbioma de la rizosfera y la salud de las plantas*. Universidad de la Laguna. Available at: <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/33264/EI%20microbioma%20de%20la%20rizosfera%20y%20la%20salud%20de%20las%20plantas.pdf?isAllowed=y&sequence=1> (Accessed: 4 November 2024).
- Mendoza, R. y Espinoza, A. (2017) 'Guía Técnica para Muestreo de Suelos', in Nicaragua. Available at: <https://repositorio.una.edu.ni/3613/1/P33M539.pdf> (Accessed: 19 December 2023).
- Morocho, M.T. y Mora, M.L. (2019) 'Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas', *Centro Agrícola*, 46(2), pp. 93–103.
- Mulford, J.L.H., Hinojosa, J.G.C. and Milian, P.E. (2012) 'Aislamiento de cepas de Rhizobium spp., asociados a dos leguminosas forrajeras en el Centro Biotecnológico del Caribe Isolation of Rhizobium spp., associated two forage leguminous in the Caribbean Biotechnological Center', *Revista Colombiana de Microbiología Tropical*, pp. 51–62.
- Najera, J.A. (2023) 'Qué es el muestreo de suelo: guía completa - Zona Green', *Zona green*, 8 November. Available at: <https://zonagreen.com.mx/que-es-un-muestreo-de-suelo/> (Accessed: 19 December 2023).
- Niquinga, M.C.E. (2016) 'Elaboración y evaluación de un medio de cultivo sólido a partir de quinua, Chenopodium quinoa, para la producción del hongo Lentinus spp.' Available at:

<https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/www.dspace.uce.edu.ec> (Accessed: 17 October 2024).

- Osti, L., Reyes, L. y Victoria, E. (2004) 'Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas.', *Terra Latinoamericana*, 22(2), pp. 225–239.
- Pereira, S. (2014) *Aspergillus spp. en plantas de maní nativo y cultivado. Identificación, capacidad toxicogénica y control biológico*. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. Available at: https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n5554_Pereira.pdf (Accessed: 4 November 2024).
- Perero, A.D.P. (2024) *Características físicas, químicas y microbiológicas del suelo aisladas de dos variedades de pasto en Manglaralto y Colonche provincia de Santa Elena*. bachelorThesis. La Libertad, Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2024. Available at: <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/12023> (Accessed: 17 October 2024).
- Pita, Á.A.G. (2021) *Propuesta de ordenamiento agroecológico del Centro de Apoyo Manglaralto de la Universidad Estatal Península de Santa Elena*. bachelorThesis. La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2021. Available at: <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/6517> (Accessed: 17 October 2024).
- Prudente, O.A.Z. (2023) *IDENTIFICACIÓN DE RIZOBIOS EN LAS LEGUMINOSAS Clitoria sp. y Cajanus cajan EN DOS ZONAS PRODUCTIVAS DE LA PROVINCIA DE SANTA ELENA*. UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA. Available at: <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/9750/1/UPSE-TIA-2023-0015.pdf>.
- Quinzo, B.D.D. (2022) *MICROORGANISMOS DE USO AGROINDUSTRIAL AISLADOS DEL SUELO DE UN BOSQUE PRIMARIO DE LA PARROQUIA PUNGALA CANTÓN RIOBAMBA*. Escuela superior politecnica de Chimborazo. Available at: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17808/1/27T00553.pdf>.
- Ramos, M.M. *et al.* (2023) 'Potencial de especies de leguminosas mejoradoras de la fertilidad del suelo en regiones tropicales', *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 14(4), pp. 531–541. Available at: <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i4.3152>.
- Saavedra, L.E.V. *et al.* (2024) 'El desarrollo de leguminosas de cobertura por hongos micorrízicos arbusculares depende del grado de especificidad de los simbioses', *Manglar*, 21(2), pp. 279–286. Available at: <https://doi.org/10.57188/manglar.2024.030>.
- Sánchez, D.B.L. (2023) 'Caracterización y evaluación de PGPRs sobre el crecimiento de plántulas de *Dioscorea rotundata* in vitro', *Agronomía Costarricense*, 42(2), pp. 75–91. Available at: <https://doi.org/10.15517/rac.v42i2.33780>.
- Saldaña, F.A.C. (2016) *RENDIMIENTO DEL CULTIVO DEL PALLAR (Phaseolus lunatus L.), BAJO DOS MÓDULOS DE RIEGO POR GOTEO EN EL SECTOR BARRAZA, DISTRITO DE LAREDO, PROVINCIA DE TRUJILLO, DEPARTAMENTO DE LA LIBERTAD – PERÚ*. UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO. Available at: https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12759/3064/REP_ING.AGRON_FIORELLA.CRUZ_RENDIMIENTO.CULTIVO.PALLAR.PHASEOLUS.LUNATUS.L.DOS.M%EF%BF%BDDULOS.RIEGO.GOTEO.SECTOR.BARRAZA.DISTRITO.LAREDO.TRUJILLO.LA.LIBERTAD.PER%EF%BF%BD.pdf?sequence=1 (Accessed: 29 November 2023).

- Selosse, M.-A., Baudoin, E. y Vandenkoornhuyse, P. (2004) 'Los microorganismos simbióticos, clave para el éxito ecológico y la protección de las plantas', *Comptes Rendus Biologies*, 327(7), pp. 639–648. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2003.12.008>.
- Soroa, B. *et al.* (2008) 'Identificación de algunas especies de microorganismos benéficos en la rizosfera de gerbera y su efecto en la productividad', *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 15, pp. 41–48.
- Sosa, A. *et al.* (2004) 'Aislamiento y caracterización fenotípica parcial de cepas de rizobios que nodulan leguminosas rastreras', *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 38(2), pp. 197–201.
- Soto, J., Borbor, G. y Borbor, V. (2012) 'Identificación y Caracterización de Cepas Nativas de Rhizobium en la Provincia de Santa Elena.', *Revista Científica y Tecnológica UPSE*, 1(1). Available at: <https://doi.org/10.26423/rctu.v1i1.8>.
- Soto, J.V. (2020) *TAXONOMÍA FENOTÍPICA Y MOLECULAR DE BACTERIAS AISLADAS DE NÓDULOS DE Clitoria brachystegia Benth., UNA LEGUMINOSA EN PELIGRO DE EXTINCIÓN*. Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Toten, A. (2022) *La importancia de los microorganismos en el suelo, Herogra*. Available at: <https://herograespeciales.com/la-importancia-de-los-microorganismos-en-el-suelo/> (Accessed: 10 January 2024).
- Zambrano, C.T.Y.P. (2012) *Efecto de Rhizobium y micorrizas arbusculares en el desarrollo de Cajanuscajan en presencia de abonos verdes, en suelos naturales de la localidad de Espino estado Guárico*. Universidad Central de Venezuela. Available at: http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/3686/1/T026800004407-0-Defensa_Final_CarmenParra-000.pdf.
- Zambrano, P.K.B. (2015) *COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE Clitoria ternatea EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ*. UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO. Available at: <https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/bb1250cf-5404-4bdd-a6f2-c4ee6f793a3b/content>.
- Zúñiga-Dávila, D.E.Z. (2012) *Manual de microbiología agrícola*. Primera edición mayo 2012. Lima-Perú.

ANEXOS

Anexo 1A. Informe del análisis de suelo del cultivo frejol pallar (*Phaseolus Lunatus*) del área agrícola.

	ESTACIÓN EXPERIMENTAL LITORAL SUR LABORATORIO DE SUELOS, TEJIDOS VEGETALES Y AGUAS Km. 26 Vía Durán - Tambo Apdo. Postal 09-01-7069 Yaguachi - Guayas - Ecuador Teléfono: 042724260 - 042724119 e-mail: labsuelos.eels@iniap.gob.ec	LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL SAE N°OAE LE C 11-007
---	--	--

INFORME DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DEL PROPIETARIO		DATOS DE LA PROPIEDAD		DATOS DE LA MUESTRA	
Nombre :	<u>UNIVERSIDAD ESTATAL PENINSULA DE SANTA ELENA</u>	Nombre :	<u>SN</u>	Informe No. :	00591 - 24
Dirección :	<u>SANTA ELENA</u>	Provincia :	<u>SANTA ELENA</u>	Responsable Muestreo :	Cliente
Ciudad :	<u>LA LIBERTAD</u>	Cantón :	<u>SANTA ELENA</u>	Fecha Muestreo :	<u>07/05/2024</u>
Teléfono :	<u>042781732</u>	Parroquia :	<u>SANTA ELENA</u>	Fecha Ingreso :	29/08/2024
Fax :	<u>042781971</u>	Ubicación :	<u>MANGLARALTO</u>	Condiciones Ambientales :	T°C: 24.7 %H: 58.5
				Factura No. :	9483
				Fecha Análisis :	04/09/2024
				Fecha Emisión :	05/09/2024
				Fecha Impresión :	06/09/2024
				Cultivo Actual :	<u>Suelo Costa</u>

N° Laborat.	Identificación del Lote	pH	ug/ml												
			* NH 4	* P	K	* Ca	* Mg	* S	* Zn	Cu	*Fe	* Mn	* B	* Cl	
79821	MUESTRA 1 - FREJOL PALLA	7.3 PN	7 B	16 M	1327 A	4423 A	465 A								

Interpretación	pH	
NH ₄ , P, K, Ca, Mg, S	MAc = Muy Acido	N = Neutro
Zn, Cu, Fe, Mn, B, Cl	Ac = Acido	LAI = Lig. Alcalino
	MeAc = Med. Acido	MeAl = Med. Alcalino
	LAc = Lig. Acido	Al = Alcalino
	PN = Prac. Neutro	RC = Requiere Cal
	B = Bajo	
	M = Medio	
	A = Alto	

Determinación	Metodología	Extractante
NH ₄ , P	Colorimetría	Olsen
K, Ca, Mg	Absorción	Modificado
Zn, Cu, Fe, Mn	Atómica	pH 8.5
S	Turbidimetría	Fosfato de Ca
B	Colorimetría	Monodésico
Cl	Volumetría	Pasta Saturada
pH	Potenciométrica	Suelo: agua (1:2.5)

Niveles de Referencia Optimos		
Medio (ug/ml)		
NH ₄ 4 - 20	Mg 121.5 - 243	Fe 20 - 40
P 10 - 20	S 10 - 20	Mn 5 - 15
K 78 - 156	Zn 2.0 - 7.0	B 0.5 - 1.0
Ca 800 - 1600	Cu 1.0 - 4.0	Cl 17 - 34

N/E = No entregado

<LC = Menor al Límite de Cuantificación

Los resultados emitidos en este informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) sometida(s) al ensayo

Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de acreditación solicitado al SAE.

Las opiniones, interpretaciones, etc, que se indican a continuación, están fuera del alcance de acreditación solicitado al SAE.

** Ensayo subcontratado

Se prohíbe la reproducción parcial, si se va a copiar que sea en su totalidad

Los datos marcados con cursiva y subrayados son proporcionados por el cliente


Responsable Técnico del Laboratorio

M. J. Diana Acosta



ESTACIÓN EXPERIMENTAL LITORAL SUR
LABORATORIO DE SUELOS, TEJIDOS VEGETALES Y AGUAS
 Km. 26 Vía Dvto. r. r. m. Apd. Postal 09-01-7069 Yaguachi, Guayas, Ecuador
 Teléfono: CU2124260-042724119 t-ma.it.lsb.sueto.sffs@ini,tp.gob.ec

LABORATORIO DE ENSAYO
 ACREDITADO POR EL SAE
 N°OAE LEC 11-007

INFORME DE ANALISIS DE SUELOS

Nombre <u>UNIVERSIDAD ESTADAL PENINSULA DE SANTA</u>	Nombre <u>EDAO</u>	1 onneNo. 00591 - 24	Factura No. 9483
Dirección <u>SANTA ELENA</u>	Provincia <u>SANTA ELENA</u>	RfpQnsabl Muestreo Cliente	Fecha Análisis 04/09/2024
Ciudad <u>LALIBERTAD</u>	Cantón <u>SANTA ELENA</u>	Fecha Mues1reo <u>04/05/2024</u>	Fecha Emisión 05/09/2024
Teléfono <u>042781732</u>	Parroquia <u>SANTA ELENA</u>	Fecha Ingreso 29/08/2024	Fecha Impn,sión 06/09/2024
Fax <u>04278tg7t</u>	Ubicación <u>NGLARALTO</u>	Condiciones Ambientates : 1°C:24.7 %H: 58.5	Cuttrio Actual SueloCUs/a

N°Laborat	IdenUficación	• Textura (%)		• Clase Textura!			meq/100ml		mS/cm		Ca		Mg	Ca+Mg		
		Al+H	Al	Na	C.E.	M.O.	K	ea	Ca	Mg	K	K				
79821	MJ.ES.TRA 1 • FR J.QLPA.LAR	1	1							3.40	22.12	3.83	29.34	15.78	1.12	7.62

• • •	NS = No Salino
U • • •	LS = U, 8" 1110
l • • •	\$ MS = \$11.g.o
	• Mit, Solllr.o

C(. ClKO>I;al
MOI rMIIMI
CIC <lt iclt

COC	AccQ10d4t.....
	Chnlfoe 8-IG

Lig. Tóxico	UI-U	C.E.	LO-4.0	CaMg	20, U	1(O.t • O<
MH	0.31 - 1.0	Medio (%)	MyK	U . 100	e, < . a	
N	0.5 - 1.0	M.O.	(Ca+Mg)/K	125 • SOQ	1 • 2	

M • No imtAgado

<LC• Menor111Llmit•dt Cuanú'tk.clón
 u, <esullados fffllidosen esm iNonno a, rresponcion unl< ;amtnt•, 11(5)m. 1uh(1) sometlóa(a>, 1 nfwyo.
 Loisenwyo;ma oonr>no esianlnCkidosen el 8'cel'IOe de ectec11. aeión S01icuu1do al SAE.
 LM opinielnet, i"lietpretadone-, etc., que, s,e,indican• c: onlinuadón, están del lllknnce deaaedlllJC6ón \$01 llt SAE
 • Ensayo5'bXW,at,act.
 SeptOlvbtII r IC dón pardal. ti M va• copiar (llJe sea en tu IOUllclied
 Los dMOSmarcados coo (llfwJI y 5lltnyadois sonpr090tdonedof por. i ctoentie

Responsable Técnico del Laboratorio

Diana Acosta

Anexo 2A. Informe del análisis de suelo del cultivo maní forrajero (*Arachis pintoi*), conchita azul (*Clitoria ternatea*) del área forrajero.

	ESTACIÓN EXPERIMENTAL LITORAL SUR LABORATORIO DE SUELOS, TEJIDOS VEGETALES Y AGUAS Km. 26 Vía Durán - Tambo Apdo. Postal 09-01-7069 Yaguachi - Guayas - Ecuador Teléfono: 042724260 - 042724119 e-mail: labsuelos.eels@iniap.gob.ec	LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL SAE N°OAE LE C 11-007
---	--	--

INFORME DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DEL PROPIETARIO		DATOS DE LA PROPIEDAD		DATOS DE LA MUESTRA			
Nombre :	UNIVERSIDAD ESTATAL PENINSULA DE SANTA ELENA	Nombre :	S/V	Informe No. :	00592 - 24	Factura No. :	9483
Dirección :	SANTA ELENA	Provincia :	SANTA ELENA	Responsable Muestreo :	Cliente	Fecha Análisis :	04/09/2024
Ciudad :	LA LIBERTAD	Cantón :	SANTA ELENA	Fecha Muestreo :	07/05/2024	Fecha Emisión :	05/09/2024
Teléfono :	042781732	Parroquia :	SANTA ELENA	Fecha Ingreso :	29/08/2024	Fecha Impresión :	06/09/2024
Fax :	042781971	Ubicación :	MANGLARALTO	Condiciones Ambientales :	T°C: 24.7 %H: 58.5	Cultivo Actual :	Suelo Costa

N° Laborat.	Identificación del Lote	pH	ug/ml												
			* NH ₄	* P	K	* Ca	* Mg	* S	* Zn	Cu	*Fe	*Mn	*B	* Cl	
79822	MUESTRA 1 - CULTIVOS FOR	7.5 PN	11 B	13 M	1441 A	4159 A	446 A								

Interpretación	pH	
NH ₄ , P, K, Ca, Mg, S	MAc = Muy Acido	N = Neutro
Zn, Cu, Fe, Mn, B, Cl	Ac = Acido	LAl = Lig. Alcalino
B = Bajo	MeAc = Med. Acido	MeAl = Med. Alcalino
M = Medio	LAc = Lig. Acido	Al = Alcalino
A = Alto	Ph = Prac. Neutro	RC = Requiere Cal

Determinación	Metodología	Extractante
NH ₄ , P	Colorimetría	Olsen
K, Ca, Mg	Absorción	Modificado
Zn, Cu, Fe, Mn	Atómica	pH 8.5
S	Turbidimetría	Fosfato de Ca
B	Colorimetría	Monobásico
Cl	Volumetría	Pasta Saturada
pH	Potenciométrica	Suelo: agua (1:2.5)

*Niveles de Referencia Óptimos			
Medio (ug/ml)			
NH ₄ 20 - 40	Mg 121.5 - 243	Fe 20 - 40	
P 10 - 20	S 10 - 20	Mn 5 - 15	
K 78 - 156	Zn 2.0 - 7.0	B 0.5 - 1.0	
Ca 800 - 1600	Cu 1.0 - 4.0	Cl 17 - 34	

N/E = No entregado

<LC = Menor al Limite de Cuantificación

Los resultados emitidos en este informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) sometida(s) al ensayo

Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de acreditación solicitado al SAE.

Las opiniones, interpretaciones, etc. que se indican a continuación, están fuera del alcance de acreditación solicitado al SAE.

** Ensayo subcontratado

Se prohíbe la reproducción parcial, si se va a copiar que sea en su totalidad

Los datos marcados con cursiva y subrayados son proporcionados por el cliente


Responsable Técnico del Laboratorio
 M^{rs.} Diana Acosta

....

Niveles de Referencia					
mg/100ml	Liq. Salino (dSiM)		Medio		
III	0.51 - 1.5	C.E.	2.0 - 4.0	Ca/Mg	2.0 - 8.0
	0.31 - 1.0	Medio (%)		Mg/K	2.0 - 10.0
	0.5 - 1.0	M.O.	3.1 - 5.0	(Ca+Mg)/K	12.0 - 18.0


Responsable Técnico del Laboratorio

It's Done Again

Anexo 3A. Promedios UFC/g suelo seco (bacterias).

<i>Arachis pintoi</i>				<i>Clitoria ternatea</i>				<i>Phaseolus lunatus</i>			
MUESTRAS 1				MUESTRAS 1				MUESTRAS 1			
	103	104	105		103	104	105		103	104	105
R1	812	470	220	R1	46	32	26	R1	771	250	140
R2	808	462	278	R2	45	36	27	R2	705	288	182
R3	884	474	282	R3	46	33	29	R3	789	270	170
PROMEDIO	834.67	468.67	260	PROMEDIO	45.67	33.67	27.33	PROMEDIO	755	269.33	164
MUESTRAS 2				MUESTRAS 2				MUESTRAS 2			
	103	104	105		103	104	105		103	104	105
R1	768	568	298	R1	50	41	28	R1	608	262	100
R2	788	544	286	R2	53	43	24	R2	648	256	138
R3	788	564	294	R3	56	40	29	R3	660	296	142
PROMEDIO	781.33	558.67	292.67	PROMEDIO	53	41.33	27	PROMEDIO	638.67	271.33	126.67
MUESTRA 3				MUESTRA 3				MUESTRA 3			
	103	104	105		103	104	105		103	104	105
R1	552	420	236	R1	52	38	20	R1	620	206	124
R2	588	472	254	R2	56	35	21	R2	656	258	110
R3	596	456	274	R3	53	38	24	R3	688	292	156
PROMEDIO	578.67	449.33	254.67	PROMEDIO	53.67	37	21.67	PROMEDIO	654.67	252	130

Anexo 4A. Promedios UFC/g suelo seco (microhongos).

<i>Arachis pintoï</i>				<i>Clitoria ternatea</i>				<i>Phaseolus lunatus</i>			
MUESTRAS 1				MUESTRAS 1				MUESTRAS 1			
	103	104	105		103	104	105		103	104	105
R1	49	36	22	R1	10	8	4	R1	6	3	1
R2	45	32	20	R2	9	7	6	R2	6	3	1
R3	40	30	24	R3	10	7	5	R3	6	3	1
PROMEDIO	44.67	32.67	22.00	PROMEDIO	9.67	7.33	5.00	PROMEDIO	6.00	3.00	1.00
MUESTRAS 2				MUESTRAS 2				MUESTRAS 2			
	103	104	105		103	104	105		103	104	105
R1	43	20	15	R1	12	8	6	R1	5	2	1
R2	40	21	19	R2	11	8	5	R2	5	2	1
R3	40	22	18	R3	13	7	5	R3	5	2	1
PROMEDIO	41	21	17.33	PROMEDIO	12.00	7.67	5.33	PROMEDIO	5.00	2.00	1.00
MUESTRA 3				MUESTRA 3				MUESTRA 3			
	103	104	105		103	104	105		103	104	105
R1	41	30	22	R1	11	7	4	R1	8	4	1
R2	41	34	27	R2	10	7	4	R2	8	4	1
R3	41	33	20	R3	10	7	4	R3	8	4	1
PROMEDIO	41	32.33	23	PROMEDIO	10.33	7	4	PROMEDIO	8.00	4.00	1.00

Anexo 5A. Microhongos encontrados en las leguminosas de Manglaralto.

<i>Arachis pintoi</i>		<i>Clitoria ternatea</i>		<i>Phaseolus lunatus</i>	
CÓDIGO	GÉNEROS	CÓDIGO	GÉNEROS	CÓDIGO	GÉNEROS
MAP103R2A	<i>Aspergillus sp</i>	MCT103R1A	<i>Aspergillus sp</i>	MFP103R3A	<i>Aspergillus sp</i>
MAP104R1A	<i>Aspergillus sp</i>	MCT103R1B	<i>Penicillium sp</i>	MFP103R3B	<i>Aspergillus sp</i>
MAP105R3A	<i>Aspergillus sp</i>	MCT103R2A	<i>Penicillium sp</i>	MFP103R2A	<i>Aspergillus sp</i>
MAP105R3B	<i>Aspergillus sp</i>	MCT104R2A	<i>Aspergillus sp</i>	MFP103R2B	<i>Penicillium sp</i>
MAP105R3C	<i>Aspergillus sp</i>	MCT104R2B	<i>Aspergillus sp</i>	MFP104R3A	<i>Rhizopus sp</i>
		MCT104R2C	<i>Aspergillus sp</i>	MFP104R3B	<i>Penicillium sp</i>
		MCT105R2A	<i>Penicillium sp</i>		

Anexo 6. Colecta y homogenización de submuestras de la rizosfera de Leguminosas.



Anexo 7A. Muestras de la rizosfera de Leguminosas.



Anexo 8A. Preparación de diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}



Anexo 9A. Reactivos utilizados para la preparación de medios de cultivo.



Anexo 10A. Siembra de microorganismos en los respectivos medios de cultivo.



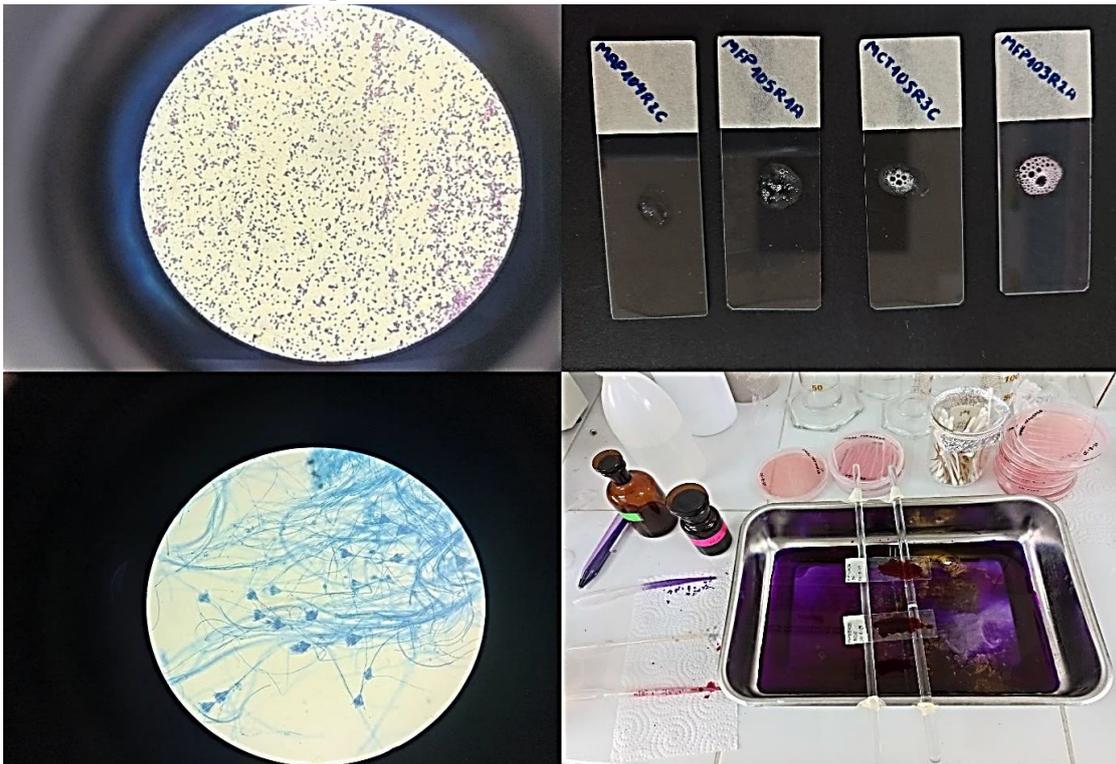
Anexo 11A. Cuantificación de microorganismos.



Anexo 12A. Incubación de muestras para la propagación de microorganismos.



Anexo 13A. Pruebas bioquímicas.



Anexo 14A. Purificación de cepas rizosfericas.



Anexo 15A. Bacterias rizosfericas aisladas de las leguminosas estudiadas.



Anexo 16A. Microhongos aislados de las leguminosas estudiadas.

