

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

“Evaluación de la capacidad de solubilización de fosfatos por bacterias asociadas a la rizosfera de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.”

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE INGENIERO AGRÓNOMO.

AUTOR:

HUGO TONIÑO MENDOZA MINA

TUTOR:

Ing. Michel Leiva Mora Dr. C.

AMBATO - ECUADOR

2022 – 2023

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

“El suscrito, **HUGO TONIÑO MENDOZA MINA**, portador de la cédula de ciudadanía Nro. **1004596795**, libre y voluntariamente declaro que el informe final del proyecto de investigación titulado. “Evaluación de la capacidad de solubilización de fosfatos por bacterias asociadas a la rizosfera de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.” es auténticamente original y personal. En virtud, declaro que el contenido de mi trabajo de investigación es de mi sola responsabilidad académica y legal, a excepción donde se indican las fuentes de información consultadas.”

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Hugo Toniño Mendoza Mina', with a small circular stamp or mark above the name.

Hugo Toniño Mendoza Mina.

DERECHOS DE AUTOR

“Al presentar este informe final del Proyecto de Investigación titulado. “Evaluación de la capacidad de solubilización de fosfatos por bacterias asociadas a la rizosfera de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.”, como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Facultad, para que este documento de investigación esté disponible para su lectura con fines de investigación de la comunidad universitaria, acorde con las normas establecidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Estoy de acuerdo en que se realicen copias de este informe final, de acuerdo con las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando la reproducción de este informe final no implique una potencial ganancia económica.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este informe final.”



.....

Hugo Toniño Mendoza Mina.

“Evaluación de la capacidad de solubilización de fosfatos por bacterias asociadas a la rizosfera de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.”

REVISADO POR.



Firmado electrónicamente por:
MICHEL LEIVA MORA

.....

Ing. Michel Leiva Mora Dr. C.

TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN



Firmado electrónicamente por:
OSCAR PATRICIO
NUNEZ TORRES

.....

Ing. PhD. Oscar Patricio Nuñez Torres.

PRESIDENTE TRIBUNAL.

FECHA

27/02/2023



Firmado electrónicamente por:
GIOVANNY PATRICIO
VELASTEGUI ESPIN

.....

Ing. Mg. Giovanni Patricio Velástegui Espin.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN.

27/02/2023



Firmado electrónicamente por:
DAVID ANIBAL
GUERRERO CANDO

.....

Ing. Mg. David Anibal Guerrero Cando.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN.

27/02/2023

DEDICATORIA

Primero que nada a DIOS por ser mi fortaleza en los momentos más difíciles de mi vida, por permitirme culminar con éxito mi carrera universitaria. A mis padres Rodrigo y Doris quienes desde siempre me han apoyado, siendo pilares fundamentales en cada meta que he cumplido en mi vida. A ti papá que a pesar que ya no estás conmigo siempre creíste en mí y desde el cielo sé que te encontraras orgulloso de tu hijo, a ti mamá porque siempre has sido mi motivación para lograr lo que me propongo y a un gran ser humano Robinson Córdova que quiero mucho, quien desde muy pequeño me ha apoyado siendo como un padre y amigo para mí, enseñándome a trabajar y saber valorar el esfuerzo que se hace día a día.

A mis hermanos Karen, Karla, Brenda, Solange, Selena, Luis, Enrique, Julián y Christopper que con su cariño, consejos me ayudaron a lograr una meta más en mi vida, sobre todo a Naty, Karla, Brenda y Luis que me ayudaron en todo momento tanto en lo económico y motivacional ayudándome a lograr cada una de mis metas de igual manera a mi primo Enrique y esposa Sandra por su cariño y apoyo en mi etapa universitaria siendo pilares fundamentales para lograr culminar con éxito mi carrera universitaria.

A mis abuelos Miguel, Mesías, Olga y Eteria, a mis cuñados Hanner, Geovanny, a mis tíos Enrique, Hugo, Guillermo, Welligton, Wilmar, Wilder, Daycis, Doycis, Deysi, Martina de igual manera a mis primos Derwin, Raquel, Mirian, Michelle, Nila, Angie, Yoconda, Valeria, Verónica y a mis sobrinos Rodrigo, Gael, Byron, Samir, Justin, Kendra, Samira, Ivette, Keisha, Mía y Brenda por el cariño en cada momento de mi vida.

A mis amigos y compañeros Cristian, Freddy, Pedro, Alejandro, Cristina, Mishell, Solange, Mayra, Liliana, Nayeli, Tatiana, Catherine y Vanessa con quienes forme una sincera amistad y compartimos muchas experiencias.

A todos ustedes va dedicado este logro en mi vida.

AGRADECIMIENTO.

Agradezco a DIOS por poner en mi camino a personas que me ayudaron a crecer tanto académicamente y como persona, sobre todo por darme la dicha de tener una hermosa familia que me ha apoyado en todo momento para lograr finalizar mis estudios.

A la Universidad Técnica de Ambato, especialmente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de formarme académicamente en mi carrera universitaria, por cada una de las enseñanzas y momentos compartidos en esta hermosa universidad, que me ayudo a cumplir con mi sueño de obtener el título de tercer nivel de Ingeniero Agrónomo.

A mi tutor de tesis Ing. Michel Leiva Mora un gran docente y persona, quien desde el primer día que me dispuse hacer este proyecto estuvo siempre presto en ayudarme y guiarme en todo el proceso investigativo, de igual manera al Ing. Giovanni Velástegui y el Ing. David Guerrero por sus recomendaciones durante la revisión de este proyecto, a la Ing. Nataly Solis por facilitarme el uso de algunos equipos de las instalaciones de los laboratorios.

A todos los docentes que me compartieron sus conocimientos académicos, especialmente Ing. Luciano Valle, Dr. Carlos Vásquez, Ing. Olguer León, Ing. Marco Pérez, Ing. Hernán Zurita, Ing. Manolo Muñoz, Ing. Segundo Curay y Ing. Jorge Dobronski, de igual manera a todo el personal de trabajadores de la Facultad de Ciencias Agropecuarias que estuvieron prestos a ayudarme siempre.

A todos mis compañeros de aula por las experiencias vividas y aprendizaje compartido.

“No hay nada más complaciente que el resultado del esfuerzo que haces”

¡Siempre agradecido con todos ustedes!

HUGO TONIÑO MENDOZA MINA

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. Introducción	1
1.1.1. Clasificación de las bacterias.	1
1.1.2. Bacterias asociadas con las raíces de plantas.	2
1.1.3. Bacterias promotoras de crecimiento vegetal.	4
1.1.4. Disponibilidad del fósforo en el suelo.	5
1.1.4.1. Rizobacterias solubilizadoras de fosfatos.	7
1.2. Generalidades del cultivo de papa.	8
1.2.4. Clasificación taxonómica.	8
1.2.5. Características morfológicas.	9
1.2.3. Importancia del cultivo de papa.	10
1.2.4. Requerimientos edafoclimáticos.	12
1.2.5. Etapas Fenológicas del cultivo de papa.	12
1.2.5. Tiempo de desarrollo de las fases fenológicas.	13
1.2.7. Requerimientos nutricionales.	15
1.2.8. Principales nutrientes en las plantas.	15
1.2.9. Importancia del abonado verde.	18
1.2.10. Dificultades del uso de fertilizantes químicos.	18
1.2.11. Alternativas para la fertilización.	19
1.3. Biofertilizantes.	20
1.3.1. Tipos de Biofertilizantes.	20
1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	23

1.4.1. Hipótesis.....	23
1.4.2. OBJETIVOS.....	23
CAPÍTULO II.....	25
METODOLOGÍA.....	25
2.1. Ubicación del experimento.	25
2.2. Características del lugar.....	25
2.3. Equipos y materiales.	26
2.3.1. Material experimental.....	26
2.3.2. Equipos.	26
2.3.4. Materiales.	27
2.4. Factores de estudio.....	28
2.5. Tratamientos.....	28
2.6. Diseño experimental.....	29
2.8. Manejo del experimento.	29
2.8.1. Fase 1 del manejo del experimento.	29
2.8.2. Fase 2 del manejo del experimento.	30
2.9. Variables respuesta.....	50
2.10. Procesamiento de la información.....	51
CAPÍTULO III.....	52
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	52
3.1. Evaluación de la capacidad de solubilización de fosfatos por bacterias asociadas con la rizosfera de papa <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola.....	52

3.1.1. Cantidad de UFC por gramo de suelo de las cuatro localidades de la Provincia de Tungurahua (El Placer – cantón Quero, Pinguilí – cantón Mocha, Llangahua – Ambato y la localidad de Santa Rita – Píllaro).....	52
3.1.2. Caracterización de las colonias y la morfología de los aislados bacterianos procedentes de diferentes localidades (El Placer – cantón Quero, Pinguilí - cantón Mocha, Llangagua – Ambato y Santa Rita - cantón Píllaro) de la provincia de Tungurahua utilizando el medio de cultivo Agar Pikoskaya.....	54
3.1.3. Determinación de la capacidad solubilizadora de fosfatos de los aislados bacterianos obtenidos.	64
3.1.4. Conservación de los aislados bacterianos con mayor capacidad de solubilización de fosfatos de los cuatro cantones de Tungurahua.....	69
CAPITULO IV	72
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	72
4.3. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:	74
4.4. ANEXOS	85

ÍNDICE TABLAS

Tabla 1. Disponibilidad de las formas del fósforo inorgánico en el suelo.	6
Tabla 2. Clasificación taxonómica del cultivo de papa.	9
Tabla 3. Etapas fenológicas del cultivo de <i>S. Tuberosum</i>	13
Tabla 4. Composición del medio Agar Pikovskaya (gramos/litro).	31
Tabla 5. Características culturales las colonias bacterianas.	36
Tabla 6. Diferenciación reacción de Gram de las bacterias.	44
Tabla 7. Comparación de unidades formadoras de colonias por gramo de suelo procedentes de diferentes localidades (Quero, Mocha, Ambato, Píllaro) de la provincia de Tungurahua utilizando el medio de cultivo Agar Pikoskaya.	52
Tabla 8. Caracterización de los aislados bacterianos del sector el placer del cantón Quero en medio Agar Pikovskaya.	55
Tabla 9. Caracterización de los aislados bacterianos del sector Pinguilí del cantón Mocha en medio Agar Pikovskaya.	56
Tabla 10. Caracterización de los aislados bacterianos del sector Llangahua del cantón Ambato en medio Agar Pikovskaya.	58
Tabla 11. Caracterización de los aislados bacterianos del sector Santa Rita del cantón Píllaro en medio Agar Pikovskaya.	59
Tabla 12. Caracterización de los aislados bacterianos del tratamiento control sin la presencia de suelo en medio de cultivo Agar Pikovskaya.	61
Tabla 13. Halos de solubilización e índice de solubilización de fosfatos de aislados bacterianos procedentes de diferentes localidades (Quero, Mocha, Ambato, Píllaro) de la provincia de Tungurahua utilizando el medio de cultivo Agar Pikoskaya.	64
Tabla 14. Comparación de los halos de solubilización e índice de solubilización de fosfatos entre aislados bacterianos de la provincia de Tungurahua utilizando el medio de cultivo Agar Pikoskaya.	65

Tabla 15. *Halos de solubilización de aislados de BSF.* 90

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FIGURAS	XII
Figura 1. Morfología de la papa.	10
Figura 2. Diagrama de flujo de la fase 1 manejo del experimento.	30
Figura 3. Diagrama de flujo de la fase 2 de aislamiento y conteo de unidades formadoras de colonia por gramo de suelo (UFC. g – 1 suelo).	33
Figura 4. Diagrama de flujo de la cuantificación de las UFC. g – 1 de suelo.	35
Figura 5. Diagrama de flujo de actividades para la tinción de Gram.	44
Figura 6. Morfología y agrupación de los aislados bacterianos.	47
Figura 7. Índice de solubilización de fosfatos a partir de los halos de solubilización.	48
Figura 8. Diagrama de flujo de la evaluación cuantitativa de la capacidad de solubilización de fosfatos en medio de cultivo Agar Pikovskaya.	49
Figura 9. Caracterización cultural de los aislados bacterianos.	63
Figura 10. Morfología de los aislados bacterianos.	63
Figura 11. Halos e índices de solubilización de fosfato de aislados bacterianos.	67
Figura 12. Diagrama de flujo de los aislados bacterianos con mayor capacidad de solubilización de fosfatos conservados en glicerol al 25 % y glicerol al 20 % acompañado con BHI a -20°C.	70
Figura 13. Muestreo de suelo de la localidad de Llangahua del cantón Ambato.	85
Figura 14. Establecimiento de los tratamientos con suelos de 4 localidades de la Provincia de Tungurahua (El Placer – Cantón Quero, Pinguilí – cantón Mocha, Llangahua – Ambato y Santa Rita – cantón Píllaro).	86
Figura 15. Etiquetado de los tratamientos de las cuatro localidades de la provincia de Tungurahua (El Placer – cantón Quero, Pinguilí – cantón Mocha, Llangahua – cantón Ambato y Santa Rita – cantón Píllaro).	87
Figura 16. Carta de colores PANTONE COATED.	88

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivos evaluar, seleccionar, caracterizar y conservar los aislados bacterianos asociados a la rizosfera de la papa con mayor capacidad de solubilización de fosfatos de cuatro localidades productoras de papa de la provincia de Tungurahua, comenzando por la plantación de tubérculos de papa de la variedad Superchola en macetas de 6 L, que luego de 45 días a partir de la brotación se aislaron las bacterias que presentaron halos de solubilización de fosfatos, para lo cual se preparó el medio de cultivo Agar Pikovskaya. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Los aislados bacterianos con rangos promedios más altos fueron de la localidad de Pinguilí del cantón Mocha. De los aislados bacterianos quien menor capacidad de solubilizar fosfatos tuvo fue el aislado CC-FCAGP-BSF10, aunque no tuvo diferencias estadísticas significativas respecto a los aislados CC-FCAGP-BSF12, CC-FCAGP-BSF19, CC-FCAGP-BSF13, CC-FCAGP-BSF15, CC-FCAGP-BSF14 y CC-FCAGP-BSF31. En relación a la caracterización cultural, predominaron con el 28 % la elevación umbeliforme, 62 % formas de colonias circulares, 85 % los bordes enteros, 92 % presentaron brillo, 92 % con textura lisa y en 80 % predominaron las colonias de consistencia suave. En la morfología predominaron los bacilos con el 50 %, por su agrupación predominaron con el 45 % los diplobacilos y por la reacción de Gram las bacterias Gram (-) con el 83 %. Para la cuantificación de bacterias por gramo de suelo de cada localidad se realizaron disoluciones seriadas a partir de 48 horas de incubación a 28°C procediendo al conteo de UFC.g de suelo de cada localidad, la localidad de Santa Rita del Cantón Píllaro fue quien alcanzó el mayor rango promedio. Mientras que para la conservación de los aislados bacterianos con mayor capacidad de solubilización de fosfatos se utilizaron tubos eppendorf de 1,5 ml con dos variantes: glicerol al 25% u glicerol al 20 % más medio de cultivo infusión cerebro corazón (BHI). Acorde con los resultados obtenidos se comprobó que los aislados con mayor capacidad de solubilización de fosfatos se encuentran en la localidad de Pinguilí del cantón Mocha, los cuales son candidatos promisorios de biofertilizantes, mientras los aislados con menor capacidad de solubilización se encontraron en la localidad El Placer del cantón Quero que al mismo tiempo fue la localidad con menor número de bacterias por gramo de suelo, demostrando la reducida biodiversidad bacteriana que presenta esta localidad.

Palabras claves: Aislamiento, halos de solubilización, rizobacterias, solubilización de fosfatos.

SUMMARY

The objectives of this research were to evaluate, select, characterize and conserve the bacterial isolates associated with the potato rhizosphere with the highest phosphate solubilization capacity from four potato-producing localities in the province of Tungurahua, starting with the planting of potato tubers of the Superchola variety in 6 L pots, which after 45 days from sprouting, the bacteria that presented phosphate solubilization halos were isolated, for which the Pikovskaya Agar culture medium was prepared. A completely randomized design was used, the bacterial isolates from the locality with the highest average ranges were from the locality of Pinguilí in the Mocha canton. Of the 40 bacterial isolates, the one with the lowest capacity to solubilize phosphates was isolate CC-FCAGP-BSF10, although it had no significant statistical difference with respect to isolates CC-FCAGP-BSF12, CC-FCAGP-BSF19, CC-FCAGP-BSF13, CC-FCAGP-BSF15, CC-FCAGP-BSF14 and CC-FCAGP-BSF31. Of the 40 culturally characterized isolates, 28 % were dominated by umbelliform elevation, 62 % by circular colony forms, 85 % by entire edges, 92 % by shiny, 92 % by smooth texture and 80 % by colonies of smooth consistency. In morphology, bacilli predominated with 50 %, in grouping, diplobacilli predominated with 45 %, and in Gram reaction, Gram (-) bacteria predominated with 83 %. For the quantification of bacteria per gram of soil of each locality, serial dissolutions were made after 48 hours of incubation at 28°C, proceeding to the count of CFU.g per soil of each locality, giving as a result that the locality of Santa Rita del Cantón Píllaro was the one that reached the highest average range. For the preservation of the bacterial isolates with the highest phosphate solubilization capacity, 1.5 ml eppendorf tubes were used with two variants: 25% glycerol or 20% glycerol plus brain heart infusion culture medium (BHI). According to the results obtained, the isolates with the highest phosphate solubilization capacity were found in the locality of Pinguilí in Mocha county, which are promising candidates for biofertilizers, while the isolates with the lowest solubilization capacity were found in the locality of El Placer in Quero county, which at the same time was the locality with the lowest number of bacteria per gram of soil, demonstrating the reduced bacterial biodiversity of this locality.

Keywords: Isolation, solubilization halos, rhizobacteria, phosphate solubilization.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Introducción

Según Castillo (2016) mencionó que las bacterias se definen como microorganismos unicelulares con un tamaño que varía entre 0,5 a 5 micrómetros, actualmente se considera que las bacterias son los microorganismos más abundantes del planeta tierra, se estima que hay cerca de 40 millones de bacterias por gramo de suelo y aproximadamente 1 millón de bacterias en 1 ml de agua dulce.

Las bacterias son seres vivos que pertenecen al reino procariota, son microorganismos que tienen la capacidad de reproducirse por fisión binaria, replicando al mismo tiempo su ADN, consiguiendo que cada célula hija tenga el mismo genoma y presentando una estructura parecida a las células eucariotas, ya que poseen membrana celular y ribosoma que permiten la expresión de la información genética. Por esas características las bacterias se clasifican en dos tipos, las Archeobacterias que no tienen peptidogliconato, razón que le facilita desarrollarse en ambientes ácidos y alcalinos, y segundo están las Eubacterias que tienen peptidoglicano en la composición de su pared celular (**Vargas & Kuno, 2014**).

1.1.1. Clasificación de las bacterias.

Las bacterias se pueden clasificar de diferentes maneras, por su forma se pueden clasificar en (cocos, espirilos y bacilos entre otros), según la temperatura donde se desarrollan adecuadamente (termófilas, mesófilas, psicrófilas), de acuerdo al pH donde se desarrollan (acidófilas, neutrófilas, basófilas entre otros). Otra clasificación de las bacterias se realiza en base a la reacción de la tinción de Gram donde pueden ser Gram (+) o Gram (-), cuya reacción es proporcional al color que identifica al tipo de bacterias, es decir la reacción para las bacterias

Gram positivas es de color violeta y para las bacterias Gram negativas es de color rosado **(Mollinedo & González, 2014)**.

Las bacterias se pueden clasificar con la ayuda del método desarrollado por Christian Gram en el año 1884, al cual llamó tinción de Gram, la cual facilitó de acuerdo con la estructura y grosor de la pared bacteriana diferenciar las bacterias Gram positivas de las Gram negativas. Las bacterias Gram positiva tienen una capa gruesa peptidogliconada y no poseen membrana externa, mientras por el otro lado las bacterias Gram negativas poseen una capa peptidogliconada mucho más delgada y tienen una membrana externa **(Rodríguez et al., 2005)**.

Muchas bacterias se identifican como Gram variables, dado que poseen tinción de Gram positiva y negativa al mismo tiempo, aun teniendo las condiciones adecuadas de cultivo. Además en su estructura este tipo de bacterias tienen una pared de Gram positiva, aunque la capa de peptidogliconato es más delgada a diferencia de la mayoría de las bacterias Gram positivas **(Rodríguez et al., 2005)**.

1.1.2. Bacterias asociadas con las raíces de plantas.

Las bacterias rizosféricas son un grupo de bacterias que se desarrollan cerca de las raíces de las plantas, las cuales promueven interacciones benéficas y un bajo porcentaje de interacciones perjudiciales. Dichas interacciones entre raíces de las plantas y las bacterias juegan un papel fundamental en la adaptación, crecimiento y productividad de las especies vegetales **(Velasco et al., 2020)**.

Muchas investigaciones han demostrado evidencias de las rizobacterias sobre el crecimiento, producción y sanidad de las plantas por medio de mecanismos como la asimilación de nutrientes en la que engloba la fijación de nitrógeno y la solubilización de fosfatos como de potasio, además de generar estimulación de plantas por medio de las fitohormonas; de manera

indirecta impiden el crecimiento de agentes fitopatógenos en las plantas, debido a que activan el sistema de inmunidad de las plantas y beneficiando a solucionar los problemas de estrés abiótico **(Velasco et al., 2020)**.

En el proceso de interacción de raíces y bacterias las plantas proporcionan aproximadamente el 20% de fuentes carbonadas a los microorganismos rizosféricos, esto a cambio de tener una mejoría en la arquitectura de las raíces, la absorción de nutrientes y la activación del sistema defensivo de la planta, llevado a cabo por las bacterias promotoras de crecimiento en las plantas, la relevancia de las bacterias está influenciada particularmente por los exudados de las raíces que están compuestas por varias sustancias de elevado peso molecular como el mucilago y los de reducido peso molecular como azúcares, ácidos orgánicos, flavonoides, aminoácidos hasta vitaminas, que cumplen el papel fundamental de señalización y reconocimiento entre las plantas y microorganismos específicamente las rizobacterias. **(Velasco et al., 2020)**.

Las bacterias rizosféricas tienen la capacidad de colonizar espacios intercelulares en los tejidos de la raíz, llegando a alcanzar a los tejidos vasculares ejerciendo acciones positivas en las plantas como es la biosíntesis de fitohormonas, síntesis de sideróforos que captan el Fe y lo deposita directamente a la planta. Además tienen la capacidad de producir ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) desaminasa una importante enzima que tiene la capacidad de disminuir la biosíntesis de etileno en la raíz de la planta e incrementando su volumen radical, al igual que promueven la tolerancia a la salinidad, toxicidad por metales pesados y sequía. **(Marquina et al., 2018)**.

El uso eficiente de las bacterias depende de las condiciones ambientales como la acidez del suelo, grado de humedad y temperatura, siendo necesario un pH neutro y temperaturas que oscilen desde 15 a 45°C, su uso promueve a un conjunto de beneficios como aumento hídrico del suelo, induciendo la resistencia ante el estrés hídrico en épocas de sequía, inducción de crecimiento, desarrollo, floración, maduración de frutos debido a la producción hormonal en zonas meristemáticas de los tejidos de las plantas **(Morocho & Leiva, 2019)**.

1.1.3. Bacterias promotoras de crecimiento vegetal.

Según Camelo et al. (2011) mencionaron que el inicio de la actividad de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal empieza con la quimiotaxis bacteriana: mecanismo mediante el cual la bacteria responde eficiente y rápidamente a los cambios en la composición química de su ambiente, de esta forma puede acercarse o permanecer en ambientes favorables o escapar de ambientes hostiles. De esta manera se la define como el conjunto de mecanismos que están estrechamente relacionados con la disposición de flagelos, receptores químicos y los métodos mediadores codificados genéticamente. Dichos factores tienen gran relevancia sobre la capacidad colonizadora en la rizosfera y la propiedad comunicativa entre las células rizosféricas y los microorganismos disponibles en el suelo.

Los microorganismos que promueven el crecimiento vegetal son un determinado grupo de distintas especies que tiene la capacidad de aumentar el crecimiento, desarrollo y productividad de las plantas. Dentro de estas están las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal que también tienen la capacidad de ejercer control biológico, lo que les sirve para promover el crecimiento en las plantas al instante que suprimen a los fitopatógenos. A pesar de existir varias investigaciones sobre las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal no está esclarecido en su totalidad el mecanismo que establecen para inducir el crecimiento vegetal, sin embargo estas pueden actuar directa o indirectamente sobre el crecimiento de las plantas (**González & Fuentes, 2017**).

La acción directa que tienen las rizobacterias es la producción de hormonas vegetales como son el (AIA) del grupo de las auxinas, $(AG)_3$, al igual que incluyen el mecanismo de solubilización de fosfatos. Mientras que la acción indirecta que ejercen se basa en el cambio ambiental de la zona de la rizosfera de la planta y su estado ecológico, tomando acción como agentes de control biológico de microorganismos fitopatógenos de las plantas por medio de la producción de sideróforos, β -1, 3-glucanasas, antibióticos, quitinasas, etc. (**González & Fuentes, 2017**).

Algunas rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal como *Bacillus cereus* Frankland y Frankland, *B. megatherium* Bary, *B. subtilis* (Ehnberg) Cohn, *Azotobacter beijerinckii* Lipman, *Azotobacter chroococcum* Beijerinck, *Pseudomonas putida* Trevisan, *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg y Dobereiner, y *A. lipoferum* (Beijerinck) Tarrand tienen la capacidad de generar sustancias que son fisiológicas y bioquímicamente activas tales como las vitaminas y hormonas vegetales tales como AIA, citoquininas, y giberelinas en cantidades importantes, dando lugar a estimulaciones como germinación de semillas, desarrollo y crecimiento de las plantas a pesar de las condiciones de estrés en la que se encuentre la planta. Además no solo benefician a la asimilación de nutrientes sino que también reducen el uso excesivo de fertilizante y pesticidas. (Arcos & Zúñiga, 2016).

1.1.4. Disponibilidad del fósforo en el suelo.

Beltrán (2014) afirmó que la disponibilidad del fósforo en el suelo es importante para el crecimiento vegetal dado que representa algo más del 2 % de la masa seca de la planta, siendo el segundo elemento más importante en la nutrición vegetal. Las plantas toman el fosfato del suelo en formas inorgánicas solubles como los fosfato monobásico ($\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$) y fosfato dibásico (HPO_4^{-2}), requiriendo un pH cercano a 6,5 para hacer disponible al ión ortofosfato presente en el suelo para que sea aprovechable para las plantas, debido a que en ese pH los fosfatos de Ca y Al tienen menor precipitación. La comparación de la movilidad del fósforo con otros elementos es muy reducida por lo que se hace necesario el abonado en exceso de fertilizantes fosforados para suplir los requerimientos nutricionales de los cultivos, llevando a que estos insumos se pierdan mediante escorrentía superficial dando como resultado la eutroficación de fuentes de agua.

Cerca del 90 % de estos fertilizantes se precipitan dando como resultado fosfatos insolubles como fosfato tricalcico, fosfato de aluminio y fosfato de hierro los cuales no son aprovechables por las plantas y tienden a acumularse en el suelo. Las fuentes de fósforo en el suelo se dividen en 2 grupos fósforo orgánico y fósforo inorgánico, este último se encuentra unido a elementos como

el Ca, Al y Fe debido al mecanismo de precipitación encontrándose como sales en solución, cristalina o sales que han sido absorbidas por coloides del suelo. La distribución de estas fuentes de fósforo está influenciada por el tipo de suelo, vegetación, pH, actividad microbiana y aplicación de fertilizantes fosforados en el suelo (**Beltrán, 2014**).

Tabla 1. Disponibilidad de las formas del fósforo inorgánico en el suelo.

Tipo de fosfato	Identificación	Fórmula química	Características
	Hidroxiapatita	$3Ca_3(PO_4)_2 Ca(OH)_2$	Alta abundancia
	Oxiapatita	$3Ca_3(PO_4)_2 CaO$	Mediana abundancia.
	Fluorapatita	$Ca_5(PO_4)_3F$	Alta abundancia
Fosfatos de calcio	Carbonatoapatita	$Ca_5(PO_4)_3CaCO_3$	Mediana abundancia.
	Fosfato tricálcico	$3Ca_3(PO_4)_2$	Baja solubilidad
	Fosfato dicálcico	$CaHPO_4$	Alta solubilidad
	Fosfato monocálcico	$Ca(HPO_4)_2$	Alta solubilidad
	Estrengita	$FePO_4 \cdot 2H_2O$	Baja solubilidad
Fosfatos de hierro	Livianita	$Fe_3(PO_4)_2 \cdot 8H_2O$	Baja solubilidad
Fosfato de Aluminio	Variscita	$AlPO_4 \cdot 2H_2O$	Baja solubilidad

Fuente: (Beltrán, 2014).

1.1.4.1. Rizobacterias solubilizadoras de fosfatos.

Según Restrepo et al. (2014). Mencionaron que el fósforo es uno de los macronutrientes más utilizados para el crecimiento de las plantas, sus mayores reservas se encuentran en el suelo, rocas y depósitos de apatitas primarias entre otros minerales que se formaron durante anteriores eras geológicas. Su disponibilidad en la planta está relacionado con la concentración en la disolución del suelo, la solubilidad del fósforo inorgánico es aumentada gracias a las plantas y microorganismos, esto debido a la producción de protones por la acción de bombas protónicas, iones OH^- o CO_2 , aniones de ácidos orgánicos tales como oxalato, citrato, malato. Y además mineralizan el P inorgánico mediante la producción de enzimas fosfatasa.

El fosfato inorgánico es solubilizado por las rizobacterias mediante la generación de CO_2 , ácidos orgánicos, producción de protones y por consiguiente la absorción de NH_4^+ . Sin embargo el mecanismo principal para la solubilización de fosfatos de calcio se da por medio del proceso de la biosíntesis y de la secreción de ácidos orgánicos gracias a la acidificación (Paredes & Espinosa, 2010).

La solubilización de fosfatos se debe a varios mecanismos como la producción de ácidos orgánicos, su acción se da gracias a que producen ácidos orgánicos extracelulares que intervienen en el proceso de quimiotaxis microbiana y posteriormente a la detoxificación de metales, entre estos ácidos están el ácido butírico, glucónico, láctico, cítrico, oxálico, acético, fumárico, y 2-cetoglucónico que actúan sobre fosfatos inorgánicos insolubles tales como los fosfatos de calcio, fosfatos de hierro y fosfato de aluminio, estos ácidos orgánicos ayudan a acidificar la zona rizosférica incrementando la solubilización de fosfatos, además poseen carga negativa que forman complejos al quelar iones metálicos como el Ca^{+2} , Fe^{+3} , Al^{+3} que están asociados a los fosfatos posibilitando a que los fosfatos sean más disponibles para las plantas (Corrales et al., 2014).

El mecanismo para solubilizar fosfatos mediante la liberación de ácidos orgánicos dependen del pH y el proceso de mineralización, existen dos caminos para que esto se desarrolle empezando por el intercambio del ácido, un claro ejemplo es el H^+ del citrato que se intercambian con el fosfato que está relacionado con la superficie de cristales de $Al(OH)_3$ o el $Fe(OH)_3$, reduciéndolo y liberando el P. El siguiente mecanismo tiene una dependencia de la concentración de ácidos orgánicos producidos por los microorganismos solubilizadores de fosfatos, estos ácidos producen un efecto quelante por medio de grupos hidroxil y carboxil que quelan los cationes como el Ca, Al y Fe que se encuentran unidos a los fosfatos haciéndolos solubles y a disposición de las plantas (Beltrán, 2014).

1.2. Generalidades del cultivo de papa.

Según Márquez et al. (2020) mencionaron que el cultivo de papa *S. tuberosum* L. tiene su origen en especies silvestre halladas en el sur de Perú exactamente en el sur del lago Titicaca. Es uno de los cultivos más importantes en la alimentación mundial. Por lo cual, se ubica como el cuarto alimento en mayor producción y relevancia alimenticia, ocupando el cuarto lugar después del arroz, el trigo y el maíz. Su producción anual a nivel mundial está estimada en 377 millones de toneladas cubriendo una superficie de 19 millones de hectáreas para un rendimiento de 19,5 toneladas por hectárea y aproximadamente 200,000 a 300,000 toneladas al año.

1.2.4. Clasificación taxonómica.

Es una planta herbácea, dicotiledónea con una reproducción preferible por vía asexual, perteneciente a la familia Solanaceae su nombre científico es *S. tuberosum* L.

Tabla 2. *Clasificación taxonómica del cultivo de papa.*

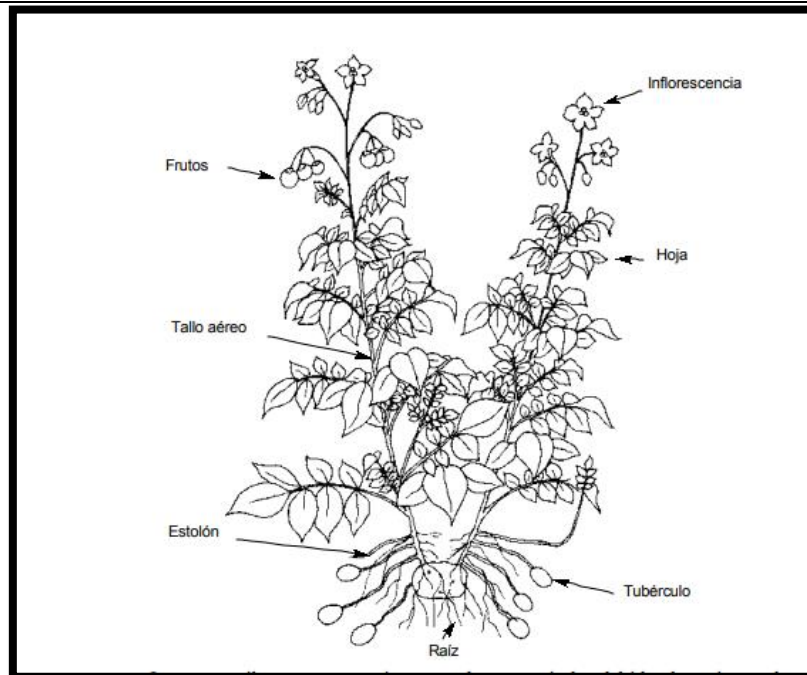
Reino:	Plantae.
División:	Spermatofita
Clase:	Angiosperma
Subclase:	Dicotiledónea
Orden:	Tubbiflorae
Familia:	Solanaceae
Género:	Solanum
Especie:	tuberosum
Subespecie:	Tuberosum, andigenum.

Fuente: (Salazar et al., 2008).

1.2.5. Características morfológicas.

La papa se caracteriza por ser una planta herbácea, con tubérculos que se desarrollan en la parte final de los estolones los cuales se interceptan desde el tallo principal. El número de tallos dependen del número de yemas brotadas del tubérculo, en las axilas de las hojas unidas al tallo se desarrollan ramas secundarias. Sus hojas tienen filotaxia alternada, compuestas e imparipennadas, cuenta con una inflorescencia cimosa, flores hermafroditas, con colores variables en las flores va de blancas verdosas a crema amarillenta y de violeta claro a púrpura. (Montaldo, 1984).

Figura 1. Morfología de la papa.



Fuente: (INIAP, 2017).

En el caso del fruto es una baya biloculada con un tamaño de 15 a 30 cm de diámetro, sus frutos contienen un número cercano a las 300 semillas. La raíz tiende a desarrollarse en los nudos del tallo en verticilo en los nudos del tallo principal teniendo un crecimiento vertical que luego se extiende en forma horizontal llegando a alcanzar una profundidad que va desde 25 a 50 cm de profundidad y dependiendo del manejo de suelo puede llegar hasta los 90 cm. Sus tubérculos son de forma redonda, alargados con yemas axilares. **(Montaldo, 1984).**

1.2.3. Importancia del cultivo de papa.

Linares & Gutiérrez (2001) aseguraron que la papa es mayormente cultivado en Europa, ocupando el cuarto lugar entre los cultivos más importante en países en desarrollo, su producción ha aumentado notoriamente en los últimos 30 años con un incremento del 3% en la producción mundial. Entre los que más consumen papa fresca están los países de Europa, mientras que África

que tuvo los índices más altos de desnutrición, presentó menor consumo de papa teniendo un promedio de 11 kilogramos per cápita al año, dentro del aumento de consumo de este tubérculo trajo consigo mejoras económicas en los países que lo cultivan.

En Ecuador la papa ha sido desde la antigüedad un alimento primordial en la nutrición, teniendo como sitios de producción a las zonas altas andinas, siendo además gran eje económico al disponer de una gran diversidad genética de papas. Su gran importancia en la alimentación de familias campesinas ha llamado la atención a que se practique la agricultura familiar logrando producir gran cantidad de tubérculos de papa que cubren el 64 % de la demanda de papa en el Ecuador, teniendo una gran relevancia económica y social tanto así que en 2018 aportó el 9 % del PIB, logrando una exportación de 361,76 toneladas siendo Estados Unidos su principal destino. **(Basantes et al., 2020).**

La papa es fundamental para la alimentación humana, considerada como un recurso realmente vital dentro de la seguridad alimentaria, debido a su alto contenido nutricional gracias a que es una fuente de alta digestibilidad, con ausencia de grasas, con mínimos valores de azúcares solubles, que a diferencia de otras fuentes de almidón el de la papa dispone de un número menor de calorías en la dieta humana **(Oliver, 2017).**

La papa es un producto de alta demanda alimenticia, se han hecho muchas investigaciones sobre las propiedades alimenticias, donde han observado que contiene un 77 % de agua y un 20 % de carbohidratos que en su mayor parte es almidón. La papa aporta 87 Kcal por cada 100 g consumidos, también contiene de 1,9 a 2,1 g de proteína, 20,1 a 22,3 g de carbohidratos, 100 mg de lípidos, 14,000 mg de Fe y de 5,000 a 9,000 mg de calcio **(Paredes et al., 2013).**

1.2.4. Requerimientos edafoclimáticos.

El INIAP (2014) afirmó que el cultivo de papa se desarrolla correctamente en climas templados-fríos con temperaturas óptimas que van desde 15 a 20°C para el estado de crecimiento vegetativo, para el proceso de tuberización requiere temperaturas entre 14 a 20°C. Normalmente se desarrolla en altitudes comprendidas entre 2,600 a 3,600 msnm y precipitaciones entre 600 a 1,500 mm durante la etapa del cultivo. El suelo óptimo para su correcto desarrollo son los suelos bien drenados exactamente los suelos francos con una profundidad entre 30 y 35cm, con un gran contenido de materia orgánica y un pH que oscile entre 5 a 6.

El cultivo de papa está influenciado por el clima y el suelo, cuando el clima es muy frío afecta de manera significativa al desarrollo de los tubérculos teniendo problemas de deformación, tubérculos pequeños y el desarrollo de plagas y enfermedades. Mientras que el exceso de humedad afecta en la brotación de las yemas, en la floración hasta la cosecha del tubérculo siendo nocivos en estas últimas etapas. Además el cultivo es considerado tolerante a la concentración de sales, otro factor fundamental para la tuberización es la incidencia de la luz en el fotoperiodo, siendo los fotoperiodos más cortos favorables para la tuberización de 12 horas luz y 12 horas oscuridad y los más largos favorables al crecimiento de las plantas mayores a 12 horas luz (Zúñiga et al., 2017).

1.2.5. Etapas Fenológicas del cultivo de papa.

Según Flores et al. (2014) mencionó que la cosecha de un buen producto al final del ciclo del cultivo de papa viene de la mano de actividades agrícolas ejecutadas durante el ciclo del cultivo, por lo que se hace inminente conocer la fenología del cultivo y el tiempo que dure cada etapa fenológica, tanto así que en estas fases fenológicas dan lugar a la formación y desaparición de algunos órganos de la planta, sobre todo en las fases fenológicas que probablemente llegan a ser críticas durante el ciclo de la planta como puede ser la formación de estolones, formación de tubérculos y la etapa de floración.

Tabla 3. Etapas fenológicas del cultivo de *S. Tuberosum*.

Fase vegetativa				Fase reproductiva		Fase de maduración
V0	V1	V2	V3	R4	R5	R6
Brotación de semillas	Emergencia	Desarrollo	Inicio de floración.	Fin de floración.	Engrose.	Maduración – cosecha.
			Inicio de tuberización.	Fin de tuberización.		

Fuente: (Araujo et al., 2021).

El ciclo del cultivo de papa presenta 7 etapas totalmente definidas, las cuales tienen su inicio en donde ocurre el crecimiento de yemas y raíces, para finalizar con la cosecha de los tubérculos, el conjunto de estas etapas se le denomina fases fenológicas. A las primeras cuatro etapas del ciclo vegetativo se les denomina fase de vegetativa, mientras que las etapas R4 y R5 se encuentran en la fase reproductiva y por último tenemos a la etapa R6 que se encuentra en la fase de maduración y cosecha de tubérculos. (Araujo et al., 2021).

1.2.5. Tiempo de desarrollo de las fases fenológicas.

1.2.5.1. Fase de brotación.

Las yemas del tubérculo empiezan a emerger durando hasta 3 meses para que el tubérculo esté en condiciones óptimas para la siembra teniendo al menos 3 brotes por tubérculo correctamente desarrollados.

1.2.5.2. Fase de emergencia.

A los 12 días, los brotes comienzan a emerger de los tubérculos mientras que al utilizar la semilla sexual comienza a emerger de 8 a 12 días cuando se presentan las condiciones óptimas de temperatura y humedad del suelo.

1.2.5.3. Fase de desarrollo.

Esta fase se caracteriza por el crecimiento del follaje y aumento del volumen radicular teniendo un tiempo estimado de 20 a 30 días.

1.2.5.4. Fase de tuberización y floración.

Cuando comienza la floración es un indicio de la emisión de estolones y consigo la tuberización, dependiendo de las variedades, si son variedades precoces este proceso se da al cabo de los 30 días una vez hecha la plantación, mientras que en las variedades promedios se produce los 35 a 45 días. Finalmente cuando son variedades tardías, la floración se induce a los 50 – 60 días y la tuberización a los 60 a 75 días.

1.2.5.5. Fase de desarrollo de los tubérculos.

La madurez fisiológica es alcanzada por los tubérculos aproximadamente a los 75 días cuando la variedad es precoz, mientras que cuando la variedad es promedia se da a los 90 días y finalmente cuando la variedad es tardía se da a los 120 días aproximadamente, siendo esta etapa donde se realiza la cosecha de los tubérculos.

(Molina et al., 2004).

1.2.7. Requerimientos nutricionales.

La papa es un cultivo que genera grandes demandas de nutrientes como el nitrógeno, fósforo y potasio en todo el ciclo, siendo una de las principales hortalizas en rentabilidad. Sus elevados costos en la producción se deben a las exigencias de aplicaciones de insumo como fertilizantes y pesticidas, tanto así que este cultivo tiene un requerimiento nutricional por hectárea de 220 Kg de N, 20 Kg de P, 240 Kg de K, 60 Kg de Ca y 20 Kg de Mg, pudiendo alcanzar un rendimiento de 20 Ton/ha. La mayor cantidad de N asimilado por la planta ocurre durante el llenado de los tubérculos, ocupando un 50% del nitrógeno, mientras que el K se asimila entre 5 a 14 kg/ha/día. **(Sifuentes et al., 2014).**

En la nutrición vegetal se encuentran aproximadamente 16 elementos químicos importantes en el crecimiento vegetal, estos están divididos en macro y micronutrientes, en los macronutrientes se encuentran conformado con elementos como carbono, nitrógeno, hidrógeno, oxígeno, azufre, fósforo, potasio, calcio, magnesio y silicio. Mientras que en los micronutrientes aparecen el hierro, manganeso, cobre, zinc, molibdeno, boro y cloro que son demandados en menor proporción pero son esenciales para el crecimiento de las plantas. **(Mengel & Kirkby, 2000).**

1.2.8. Principales nutrientes en las plantas.

Los nutrientes tienen diferentes funciones en las plantas por ejemplo el grupo del (C, H, O) cumple una función formadora de estructura vegetal, siendo base principal de las estructuras orgánicas en unión con otros nutrientes como el N, que tiene participación en la formación de moléculas proteicas, aminoácidos, enzimas y ácidos nucleicos. El P tiene participación importante en la síntesis del ATP como fuente energética en las plantas, forma parte de coenzimas, fosfolípidos y ésteres. El S es parte estructural de aminoácidos azufrados como la metionina y cisteína, al igual que muchas coenzimas, vitaminas y por último tenemos al Ca que se encuentra formando parte de las estructuras de las paredes celulares y membranas como pectato de calcio **(Inostroza, 2009).**

Nitrógeno: es el nutriente más importante en la nutrición vegetal, dado que se encuentra en gran cantidad de biomoléculas que conforman la materia viva. El nitrógeno resulta ser deficiente en el suelo si se compara con los demás elementos. La absorción en forma iónica del N asimilable por las raíces son el nitrato y el amonio. Sin embargo se puede conseguir el nitrógeno atmosférico mediante la fijación simbiótica entre leguminosa y otras plantas con microorganismos de los géneros de *Rizobium* y *Frankia*.

Fósforo: es el segundo elemento más importante en la nutrición vegetal se encuentra en la planta como fosfato de forma libre o como compuesto orgánico, específicamente éster fosfóricos con grupos hidroxilos o consolidando enlaces anhídridos con mucha energía como el ATP y ADP, teniendo un papel fundamental en procesos como la fotosíntesis, respiración y en especial en el metabolismo energético. El P forma parte estructural en moléculas y estructuras celulares tales como enlaces diéster que actúan en los ácidos nucleicos y en los fosfolípidos.

Potasio: tiene facilidad de distribución desde los órganos maduros a los jóvenes, debido a su solubilidad y reducida conexión por los ligandos orgánicos. Es el catión que tiene mayor abundancia en las plantas, dado que representa aproximadamente el 10% de la materia seca. Su principal función dentro de las plantas es de osmorregulador en los procesos de apertura y bloqueo de estomas, también se desempeñan como activador de más de 50 sistemas enzimáticos como la oxiderructosas, deshidrogenasas, sintetasas y quitinasas. Su deficiencia promueve la susceptibilidad ante ataque de fitopatógenos.

Azufre: es absorbido por la planta como anión sulfato (SO_4^{-2}) siendo posible su transporte por medio del xilema. Mientras que el SO_2 tiene una reacción con el agua dentro de las células llegando a formar bisulfito que tiende a desplazar el Mg de la clorofila llegando a reducirlo, lo cual provoca daños en el aparato fotosintético.

Calcio: es absorbido por la planta como ión divalente Ca^{+2} suele estar presente en gran proporción en casi todos los suelos, sin embargo un gran limitante son los suelos con un pH muy bajo donde se producen muchas lluvias y se hace necesario la aplicación de sales de calcio. El Calcio resulta ser más móvil por la vía de absorción apoplástica que por la vía de absorción simplástica motivo por el cual los órganos encargados de transportar agua por esta vía suelen padecer de inconvenientes en el suministro de este catión. Su deficiencia en las planta trae consigo graves consecuencias en la división celular, provoca índice mitótico alto, deformación en la lámina media que se forma entre dos células hijas, ya que es parte de esta estructura que está formada por pectato de calcio.

Magnesio: es absorbido por la planta como ión divalente Mg^{+2} tiene gran movilidad tanto en la planta como en las células. El Mg se encuentra presente en proceso fundamentales como el enlace y estabilización de subunidades del ribosoma y en consecuente en la biosíntesis proteica también de la transcripción de mensaje genético debido a la activación del ARN polimerasa.

Cinc: es absorbido por la planta como catión divalente Zn^{+2} principalmente como quelato, siendo más disponible en pH ácidos. Su carencia se ve reflejada en las nervaduras de las hojas que presentan clorosis, por lo cual se lo ha relacionado al Zn con el papel de estabilizador sobre la molécula de clorofila. Algunas pruebas demuestran la participación del Zn en la síntesis del triptófano un aminoácido encargado de precursar la fitohormona de crecimiento AIA. (**Azcón & Talón., 2013**).

Por otro lado están los elementos con funciones concretas como es el caso del Boro que tiene acción en la formación de tubos polínicos y siendo conductores de azúcares, mientras que el potasio es encargado de actuar como equilibrador iónico y siendo elemento esencial de pigmentos sobre todo el licopeno. También está el hierro con una función estimuladora de tuberización temprana lo opuesto pasa con el nitrógeno que retrasa la tuberización y aumenta la parte foliar de la planta (**Inostroza, 2009**).

1.2.9. Importancia del abonado verde.

Arce (2002) sostuvo que la papa es un cultivo que tiene una buena respuesta a la aplicación de abonos verdes de gramíneas y tréboles, teniendo efectos positivos en cuanto a la mejoría en la estructura y ayudando a la mineralización del suelo y liberando algunos minerales que actúan en la nutrición vegetal que tienen la capacidad para sustituir a los fertilizantes sintéticos o bien ser un gran complemento. Solo toca tener en cuenta que este abono no se debe aplicar a mucha profundidad con el objetivo de que se pueda tener una correcta descomposición, tanto así que se debe aplicar un mes anterior a la plantación de la papa.

1.2.10. Dificultades del uso de fertilizantes químicos.

Orozco et al. (2016) aseguraron que la aplicación excesiva de fertilizantes sintéticos ha dado cabida a la pérdida de fertilidad de los suelos agrícolas lo cual ha provocado la baja productividad de los cultivos. Las inadecuadas prácticas, tienen un impacto negativo en las composiciones físicas, químicas y biológicas del suelo. Un claro ejemplo es el uso indiscriminado del fósforo que puede impedir la asimilación de micronutrientes tales como Zn y Fe, al igual que el K en forma de potasa que da como resultado el incremento del pH en el suelo, impidiendo la correcta absorción de los nutrientes. Los fertilizantes como los fosfatos y nitratos tienen efectos negativos como la contaminación de ecosistemas acuáticos.

La dependencia de los fertilizantes químicos y su uso inadecuado ha generado un desequilibrio en las propiedades del suelo. Además los nutrientes como el nitrógeno, fósforo y potasio son los principales nutrientes en el crecimiento y desarrollo de las plantas, tienen sus limitantes ya que al ser aplicados al suelo como fertilizantes químicos sufren cambios y gran parte de ellos se vuelven insolubles, evitando su eficiente absorción por las raíces de las plantas (**Serna et al., 2011**).

1.2.11. Alternativas para la fertilización.

Noda (2009) afirmó que el uso desbalanceado de fertilizantes químicos se ha convertido en gran foco de contaminación de suelos y aguas subterráneas, lagos, acequias, y otros, por lo que se ha venido trabajando en alternativas que permitan reducir la contaminación y degradación de los suelos agrícolas. Una de las soluciones es el uso de biofertilizantes, una alternativa que se vincula con microorganismos inoculados en semillas, hongos micorrízicos, bacterias solubilizadoras de fosfatos y fijadoras de nitrógeno, las cuales tienen efectos positivos en la productividad del cultivo y en el control fitosanitario, también son capaces de incrementar la materia orgánica de los suelos agrícolas.

Otras de las alternativas para remplazar a la fertilización química es el uso de abonos orgánicos que cada día gana mayor relevancia como fuente nutricional de las plantas, entre estos se encuentran los compostajes, bioles y Bocashi entre otros. Su tiempo de elaboración dependerá de los problemas nutricionales que presenten las plantas. Estos son fuente de nitrógeno orgánico ligeramente estables que lentamente se va mineralizando por la acción de microorganismos, temperatura, humedad, teniendo así nutrientes disponibles para las plantas. Los abonos orgánicos son un gran potencial para cubrir en gran parte a los fertilizantes químicos (**Ramos & Terry, 2014**).

Ante la urgencia de disminuir el uso de fertilizantes químicos, una alternativa es el uso de abonos orgánicos, particularmente el vermicompost que requiere la acción de lombrices, produciendo compuestos orgánicos que mejoran el suelo de los cultivos hortícolas, además de no ser contaminante. Estos abonos poseen sustancias activas que ejercen papel regulador del crecimiento vegetal, tienen buena capacidad de intercambio catiónico, al igual que una elevada cantidad de ácidos húmicos, también poseen características importantes como gran retenedor de humedad y una alta porosidad que favorece a la aireación del suelo (**Rodríguez et al., 2007**).

El uso de rizobacterias es una gran alternativa para reducir el uso de fertilizantes químicos, gracias a la simbiosis que existen entre las plantas y las bacterias de la rizosfera de la planta, induciendo al crecimiento vegetal por medio de varios mecanismos como la síntesis de fitohormonas, solubilización de nutrientes, liberación de sideróforos y control de agentes fitopatógenos en las plantas entre estas bacterias se encuentran los géneros como *Bacillus*, *Pseudomas*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Azospirillum*, *Beijerinckia* etc. El uso de las rizobacterias como biofertilizantes es la alternativa más eficaz para lograr reducir las aplicaciones de fertilizantes químicos (Moreno & Galvis, 2013).

1.3. Biofertilizantes.

Armenta et al. (2010) aseguraron que los biofertilizantes son biopreparados que contienen microorganismos que son aplicados al suelo con el fin de proveer nutrientes a la planta por medio de los mecanismos y propiedades funcionales que poseen. Estos microorganismos utilizados como biofertilizantes se dividen en dos grupos, el grupo I incluyen microorganismos que tienen varias capacidades como la síntesis de fitohormonas, fijación de nitrógeno, solubilización de nutrientes, inducción a la tolerancia por sequía, estrés salino, metales tóxicos y la reducción de residuos de pesticidas. Mientras que en el segundo grupo se incluyen a los microorganismos controladores de agentes fitopatógenos.

1.3.1. Tipos de Biofertilizantes.

Callahuazo & Araujo (2019) mencionaron que el uso de los biofertilizantes se han incrementado ante la pérdida de fertilidad de los suelos agrícolas ante el excesivo uso de fertilizantes sintéticos, para esto se han creado varios biofertilizantes de diferentes orígenes, entre los que se encuentran los fúngicos, bacterianos, vegetales y a base de algas con biopreparados que van desde el estado líquido al sólido. Son formulados de un microorganismo en específico o la complementación entre ellos.

1.3.1.1 Biofertilizante tipo Biol.

Es un biofertilizante en estado líquido, hecho a base de residuos orgánicos, plantas leguminosas y excrementos de animales porcinos, aves domésticas, ovinos y ganado vacuno, pasando por un proceso de descomposición anaeróbico, que luego de un periodo de filtrado da como resultado un biofertilizante eficiente llamado biol, el cual es aplicado a diferentes cultivos obteniendo resultados positivos como la inducción al crecimiento de la planta y una estimulación al mecanismo de defensa de la planta contra los agentes fitopatógenos (**Jaén, 2011**).

1.3.1.2. Biofertilizante a base de microalgas.

Es un biofertilizante elaborado a partir de algas que promueven el movimiento de nutrientes por medio de la transformación bioquímica, generación de bioactivos entre los que se encuentran polisacáridos, antimicrobiano, fitohormonas. Algunas microalgas son excelentes fijadoras de nitrógeno, otras mejoran la retención de humedad del suelo, producen fitohormonas como: auxinas y giberelinas así mismo suelen ser fuente de vitaminas. Posteriormente a su muerte se liberan exopolisacáridos y algunos bioactivos que tienen interacción en la recuperación de nutrientes y la absorción de fosfato inorgánico insoluble. Además de la generación de enzimas con características defensivas y acción quelante que aumentan la producción del cultivo (**Collahuazo & Araujo, 2019**).

1.3.1.3. Biofertilizantes fúngico.

Estos se encuentran formulados a base de hongos micorrízicos que cumplen un papel fundamental en la nutrición de las plantas mediante simbiosis, llevando consigo varios beneficios a la planta como el aumento del volumen radicular gracias a la cobertura que mantiene las hifas del hongo, mayor retención de humedad, absorción de nutrientes, tolerancia a cambio de temperatura. Unos de los géneros destacados es el *Trichoderma*, un hongo del suelo que algunas

especies suelen prevalecer en la rizosfera de las planta cumpliendo con determinadas acciones como producción de fitohormonas, solubilización y asimilación de nutrientes tales como el fósforo, cobre, hierro, zinc y manganeso y manteniendo acción antagonista contra hongos fitopatógenos (Grageda et al., 2012).

1.3.1.4. Biofertilizantes bacterianos.

Afanador (2017) mencionó que los biofertilizantes son un conjunto de bacterias rizosféricas que tienen mucha utilidad en la nutrición de las plantas, pueden ser aplicados en semillas, alrededor de las plantas en el suelo con el fin de colonizar la rizosfera e inducir en crecimiento vegetal al aumentar la disponibilidad de los nutrientes. Los géneros más utilizados para la composición de biofertilizantes se encuentran bacterias como *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Rhizobium*. La mayoría de estos bioinoculados tienen como propósito en la agricultura, la movilización y disposición de nutrientes a las plantas basándose en la actividad biológica y en general a la recuperación de la salud del suelo.

La disolución de los fosfatos de lenta solubilidad puede ser llevada a cabo por varias bacterias promotoras de crecimiento vegetal a partir de compuestos orgánicos e inorgánicos utilizando varias enzimas como: fosfatasas, fitasas y C-P liasas que tiende a romper los enlaces de carbono – fósforo mediante una reacción basada en el co-sustrato S-adenosil metionina que forma parte del complejo C-P liasas que transforma los fosfanatos en fosfato utilizable.

La solubilización de fosfatos de lenta solubilidad puede ser llevada a cabo por varias bacterias promotoras de crecimiento vegetal mediante la producción de ácidos orgánicos. Las enzimas C-P liasas se pueden solubilizar fosfatos partiendo de compuestos orgánicos presentes en el suelo, las cuales rompen los enlaces de los compuestos órgano fosforados. Sin embargo, el proceso de solubilización de fosfatos minerales se realiza mediante la producción de ácidos

orgánicos como: ácido glucónico o 2-cetaglucónico, su producción va depender mucho de la cantidad de carbono disponible en la rizosfera.

En la lucha por reducir el uso excesivo de fertilizantes sintéticos se encuentran algunos géneros bacterianos que poseen esta cualidad de solubilizar el fosfatos destacando a las siguientes bacterias *Bacillus* sp, *Stenotrophomonas* sp, *Burkholderia* sp, *Pseudomonas* sp, *Rhizobium* sp, (*Vibrio proteolyticus* Pacini), (*Enterobacter aerogenes* Kruse) y *Streptomyces* sp, entre otros (Corrales et al., 2014).

1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.4.1. Hipótesis

Ho.- Mediante el aislamiento de bacterias asociadas con raíces de *S. tuberosum* L. Var. Superchola, cultivadas en diferentes tipos de suelo, no se podría seleccionar aislados con la capacidad de solubilización de fosfatos.

H1.- Mediante el aislamiento de bacterias asociadas con raíces de *S. tuberosum* L. Var. Superchola cultivadas en diferentes tipos de suelo, se podría seleccionar aislados con la capacidad de solubilización de fosfatos.

1.4.2. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la capacidad de solubilización de fosfatos por bacterias asociadas a la rizosfera de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.

Objetivos específicos

- 1) Aislar bacterias asociadas con raíces de *S. tuberosum* L. Var. Superchola cultivadas en diferentes tipos de suelo.
- 2) Caracterizar las colonias y la morfología de los aislados bacterianos obtenidos.
- 3) Determinar la capacidad solubilizadora de fosfatos de los aislados bacterianos obtenidos.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del experimento.

El ensayo se realizó en la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Ambato, ubicada en el sector de Querochaca, Cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua. Sus coordenadas geográficas son 1°22'10.13" S y 78°36'22.81" O, con una altitud sobre el nivel del mar de 2890 m. (Google Earth, 2022).



FUENTE: (Google Earth, 2022).

2.2. Características del lugar.

Para la fase de plantación de tubérculos de papa variedad Superchola en muestras de suelos de 4 cantones de la provincia de Tungurahua y el aislamiento de las bacterias con mayor capacidad

de solubilización de fosfatos se los realizó en el laboratorio de microbiología vegetal. Con un clima frío que normalmente se encuentra a una temperatura de 15°C, con lluvias frecuentes.

2.3. Equipos y materiales.

2.3.1. Material experimental.

Para la toma de muestras de suelos se tomó en cuenta cuatro localidades de la Provincia de Tungurahua (El Placer - Quero, Pinguilí - Mocha, Llangahua – Ambato y Santa Rita – Píllaro) donde se cultiva papa, las cuales fueron ubicadas en recipientes plásticos de 6 litros con un volumen de suelo de 5,500 cc con su determinada identificación para posteriormente plantar tubérculos de papa de la variedad Superchola durante 50 días a partir de la brotación, estando en la etapa de floración.

2.3.2. Equipos.

- Autoclave (MODEL NO. 75X 120VOLTS).
- Balanza analítica (OHAUS – Pioner TM).
- Cabina de flujo laminar (INDELAB, Modelo IDL R48V Labolan).
- Destilador de agua (MILLOPONE).
- Contador de colonias (DARKFIELD QUEBEC).
- Incubadora (Modelo, 30- 1060. E07086).
- Pie de REY (Universal Digital Serie 799).
- Dispensador.
- Micropipetas (Volumen variable 1-5 ml MICROLIT RBO-5).
- Espectrofotómetro UV – Vis - XD7000.
- Refrigeradora (INDURAMA 12 pies. Modelo: 425068-C).
- Plancha térmica. (Thermo scientific modelo n° SP88857100).

- Vortex (9453VWHDUSA).
- Microscopio estereoscópico (Motic).
- Microscopio (Motic).

2.3.4. Materiales.

- Cajas Petri (90 mm x 15 ml con tapa PK10).
- Papel de filtro (Whatman ®).
- Medio de cultivo Agar Pikovskaya. (HiMedia Laboratories Pvt.Ltd.).
- Beaker (100 ml).
- Probetas (1000 ml).
- Tubos de ensayo con tapa rosca 16x150 mm, 20 ml.
- Matraz aforado (100 ml)
- Erlenmeyer (250 ml)
- Alcohol (96 %).
- Recipientes plásticos de galones (6 litros).
- Tubérculos de papa de la variedad Superchola. (Plaza primero de Mayo – Ambato).
- Muestras de suelo de cultivo de papa de cuatros cantones de Tungurahua.
- Reactivos para Tinción de Gram (Lugol, alcohol-acetona, safranina, aceite de inmersión, cristal violeta).
- Asas de inoculación de acero inoxidable.
- Espátula de Drigalsky.
- Frasco de vidrio tapa rosca azul (BOECO de 1000 ml).
- Mechero Bunsen.
- Tubos eppendorf 1,5 ml (BRAND GMBH).
- Disco Blancos. (BLANK DISCS CT998 (OXOID)).
- Cubetas desechables con dimensiones de 12,5 x 12,5 x 45 mm. (PLASTIBRAND).
- Pissetas (500 ml Boeco).

2.4. Factores de estudio.

- Procedencia de los aislados bacterianos de la localidad de El Placer – cantón Quero.
- Procedencia de los aislados bacterianos de la localidad de Pínguili – cantón Mocha.
- Procedencia de los aislados bacterianos de la localidad de Llangahua – cantón Ambato.
- Procedencia de los aislados bacterianos de la localidad de Santa Rita - cantón Píllaro.
- Características culturales y morfológicas de bacterias asociadas con las raíces de plantas de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola.
- Cantidad de UFC cultivables por gramo de suelo de los cuatro cantones de la Provincia de Tungurahua.

2.5. Tratamientos.

- T1 Bacterias asociadas con raíces de plantas de papa aisladas de muestra de suelo del cultivo de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola del cantón Quero.
- T2 Bacterias asociadas con raíces de plantas de papa aisladas de muestra de suelo del cultivo de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola del cantón Mocha.
- T3 Bacterias asociadas con raíces de plantas de papa aisladas de muestra de suelo del cultivo de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola del cantón Ambato.
- T4 Bacterias asociadas con raíces de plantas de papa aisladas de muestra de suelo del cultivo de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola del Cantón Píllaro.
- T5 Control aislamiento de bacterias con partir de raíces de plantas de *S. tuberosum* L. Var. Superchola sin la presencia de suelo.

2.6. Diseño experimental.

Para el aislamiento de las bacterias solubilizadoras de fosfatos a partir de diferentes muestras de suelos representativo del cultivo de *S. tuberosum* en la provincia de Tungurahua para el cultivo de papa Var. Superchola se utilizó un diseño completamente aleatorizado.

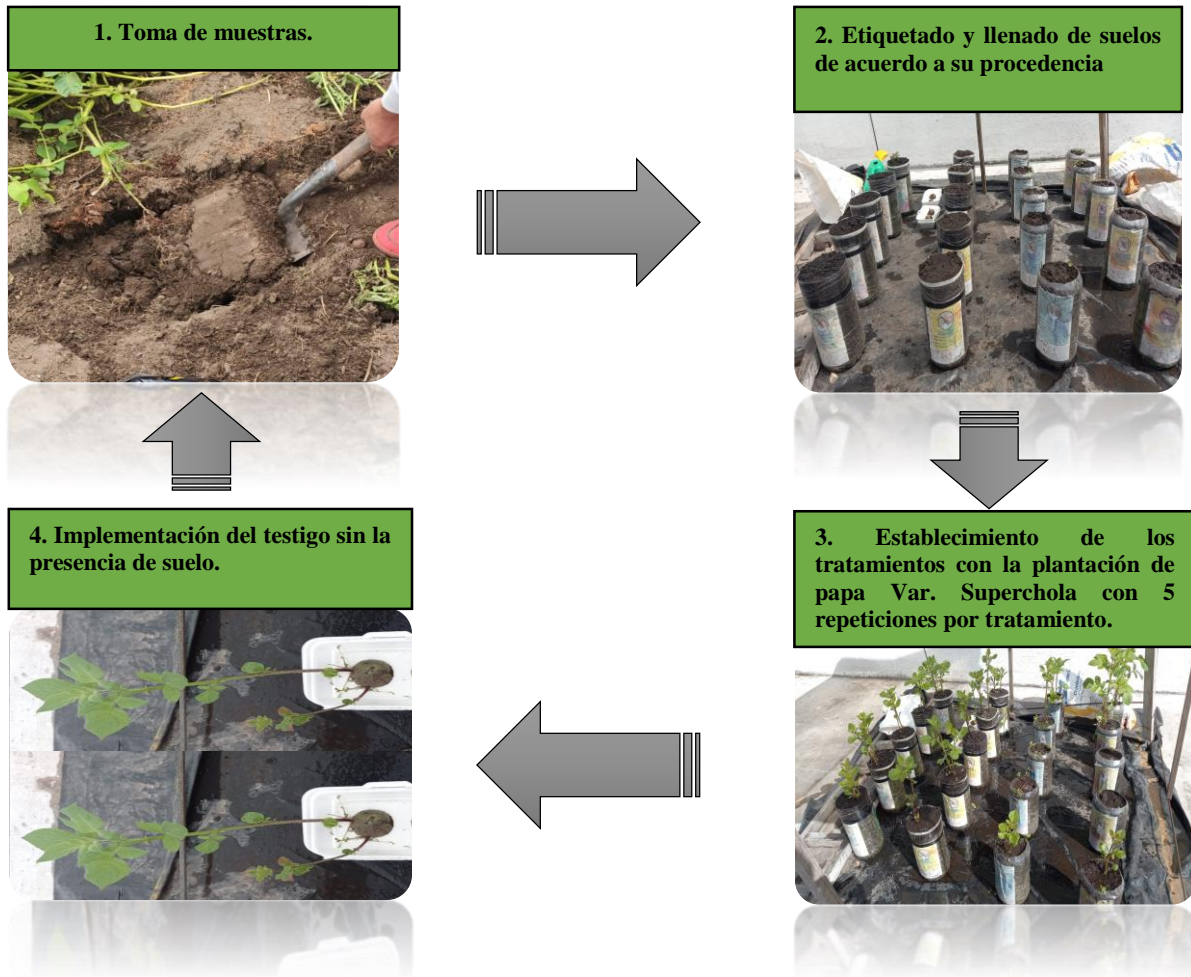
2.8. Manejo del experimento.

El experimento se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

2.8.1. Fase 1 del manejo del experimento.

- 1) Se recolectaron muestras de suelos de los primeros 25 cm de profundidad, donde se cultiva papa en cuatro localidades de la provincia de Tungurahua (El Placer – cantón Quero, Pinguilí – cantón Mocha, Llangahua - cantón Ambato y Santa Rita – cantón Píllaro) con el muestreo en zig zag.
- 2) Se colocaron las muestras de suelo de 5500 centímetros cúbicos en recipientes plásticos de 6 litros, con su respectiva etiqueta de identificación de sus tratamientos acorde con la procedencia.
- 3) Se establecieron los tratamientos, mediante la plantación de tubérculos de *S. tuberosum* L. Var. Superchola en los recipientes plásticos con las muestras de suelo recolectadas, con 5 repeticiones por tratamiento.
- 4) Se implementó el tratamiento control con la plantación de tubérculos de *S. tuberosum* L. Var. Superchola sin la presencia de suelo. Acorde con la **Figura 2**.

Figura 2. Diagrama de flujo de la fase 1 manejo del experimento.



Elaborado por: (Hugo Mendoza, 2022)

2.8.2. Fase 2 del manejo del experimento.

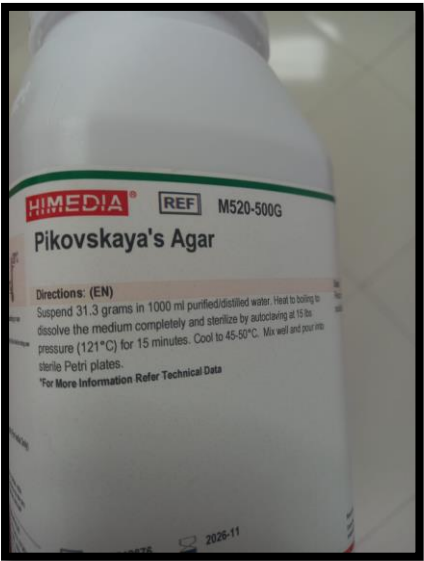
2.8.2.1. Preparación y plaqueado del medio de cultivo.

Para cada tratamiento se utilizaron 45 cajas Petri a partir de las disoluciones seriadas 10^{-2} a 10^{-6} . Para lo cual se utilizaron 28,17 g de medio de cultivo Agar Pikovskaya (**Tabla 4**) para los 900 ml utilizados por tratamientos. Se agregaron los 28,17 g de medio de cultivo Agar Pikovskaya en un vaso de precipitación de 1000 ml agregando lentamente agua esterilizada hasta aforar los

900 ml, manteniendo en la plancha térmica durante 20 minutos a 300 revoluciones por minuto, luego dejamos reposar 15 minutos.

Posteriormente a todo este proceso se volvió a poner en la plancha térmica subiendo 10°C cada 10 minutos y subiendo hasta llegar a las 300 revoluciones por minuto y al punto de ebullición, luego se puso el medio de cultivo Agar Pikovskaya preparado en un frasco de vidrio tapa rosca azul marca BOECO de 1000 ml y se etiquetó con el nombre de Agar Pikovskaya y esterilizamos en el Autoclave (MODEL NO. 75X 120VOLTS) hasta llegar a una temperatura de 121°C. Por consiguiente se mantuvo el medio de cultivo preparado de Agar Pikovskaya en el Baño María para mantener la temperatura del medio de cultivo a 50°C. Por último se procedió a vertir 20 ml del medio de cultivo Agar Pikovskaya a cada una de las cajas de Petri de 90 mm de diámetro, teniendo en cuenta que el área de inoculación se encuentre totalmente aséptica y rodeada por mecheros. Estas cajas de Petri con medio de cultivo Agar Pikovskaya una vez solidificadas se mantuvieron conservadas a una temperatura de 4°C en la refrigeradora (INDURAMA de 12 pies, modelo: 425068-C.).

Tabla 4. Composición del medio Agar Pikovskaya (gramos/litro).

Extracto de levadura	0,5 g	
Dextrosa	10,0 g	
Fosfato Tricalcico	5,0 g	
Sulfato de amonio	0,5 g	
Cloruro de Potasio	0,2 g	
Sulfato de Magnesio	0,1 g	
Sulfato de Manganeso	0,001 g	
Sulfato ferroso	0,001 g	
Agar	15,0 g	

Interpretación: Extracto de levadura.- Su función es facilitar N y otros nutrientes esenciales para la multiplicación bacteriana. Dextrosa.- se utiliza como fuente de energía. Las sales en conjunto con el extracto de levadura ayudan al crecimiento de los microorganismos. Las Rizobacterias con capacidad de solubilizar fosfatos crecen formando una zona transparente alrededor de las colonias producto del proceso de solubilización.

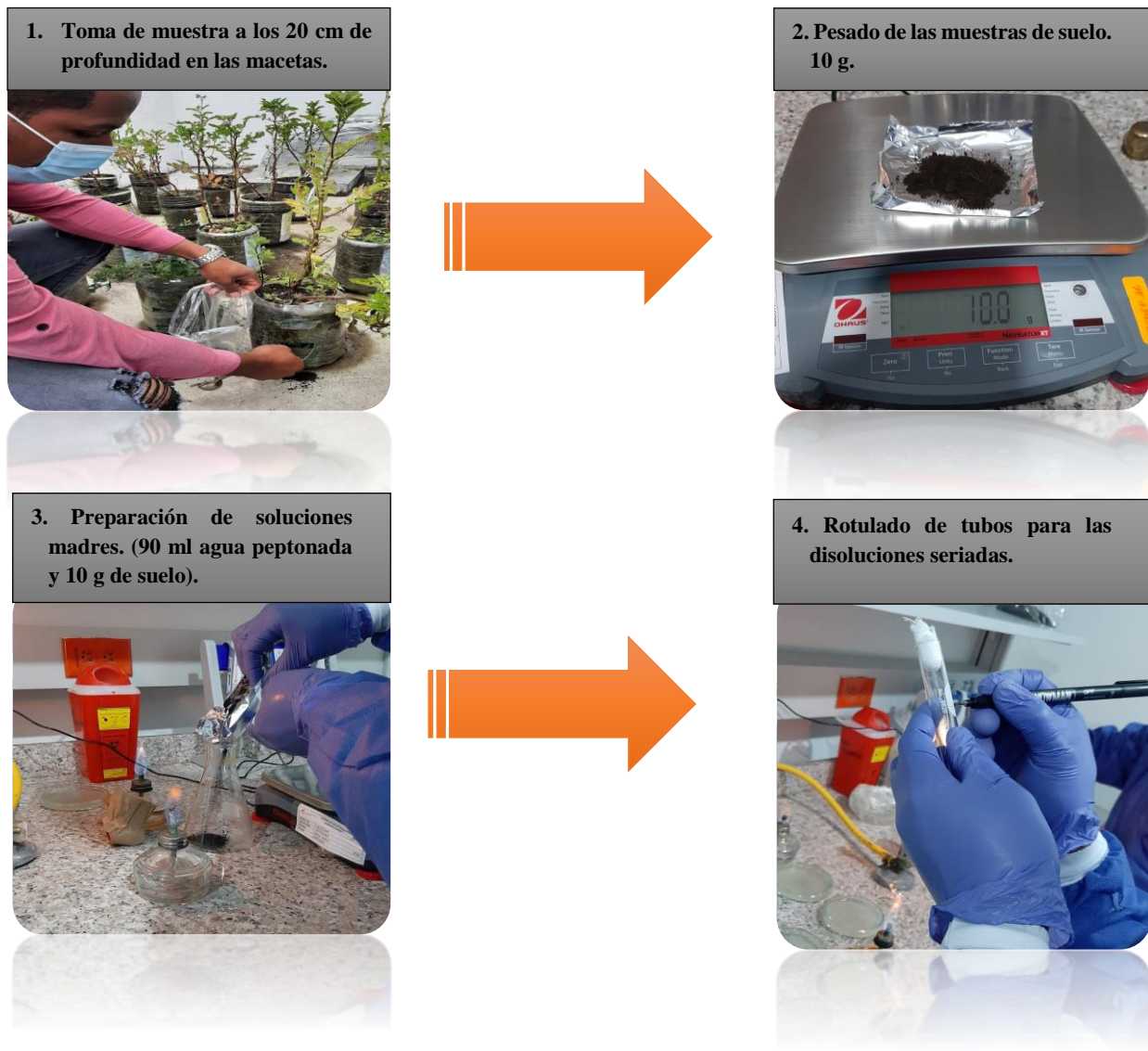
Fuente: (HiMedia Laboratories, 2015).

2.8.2.2. Aislamiento de bacterias y conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

- a) Se tomaron las muestras suelo de las macetas a los 20 cm de profundidad con 3 repeticiones por tratamiento.
- b) Posteriormente en un matraz de 250 ml previamente esterilizado se agregaron los 10 g de suelo y 90 ml de agua peptonada para ser puesta en el agitador magnético durante 30 minutos a 300 rpm.
- c) Ya teniendo la solución madre se utilizó la técnica de disolución seriada mediante conteo de viables empleada por **Hernández et al. (2020)** donde se procedió a realizar disoluciones seriadas con la ayuda del vórtex y la micropipeta con puntas azules teniendo disoluciones desde 10^{-1} a 10^{-6} con 9 ml de agua destilada y 1 ml de solución madre.
- d) Luego se sembraron las disoluciones 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} con 3 repeticiones en cajas Petri con medio de cultivo Agar Pikovskaya con la técnica de vertido en placa, la cual con la ayuda de la micropipeta se adicionaron 100 μ l de la disolución y con la ayuda de un espátula de Drigalsky previamente puesta en alcohol y pasada por el fuego del mechero se esparció los 100 μ l de la solución por toda la caja de Petri.
- e) Finalmente las cajas Petri se incubaron a 28°C durante 48 horas.

Luego de las 48 horas de incubación se procedió a realizar el conteo de las UFC, se comenzaron a observar las colonias y se seleccionaron las que están permitidas según las normas usadas por **Cuadrado et al. (2015)** quien mencionó que cuando usamos cajas Petri de 90 mm de diámetro el rango por placa de colonia debe estar entre 30 y 300 UFC por caja Petri en el caso de conteo de colonias bacterianas.

Figura 3. Diagrama de flujo de la fase 2 de aislamiento y conteo de unidades formadoras de colonia por gramo de suelo (UFC. g⁻¹ suelo).



5. Se realizaron disoluciones seriadas. (9 ml agua destilada y 1ml de solución madre.)



6. Se realizó la siembra con 3 repeticiones por disolución con 48 h de incubación a 28°C.



7. Conteo de UFC (≥ 30 y no < 300).



Elaborado por: (Hugo Mendoza, 2022).

Figura 4. Diagrama de flujo de la cuantificación de las UFC. g⁻¹ de suelo.



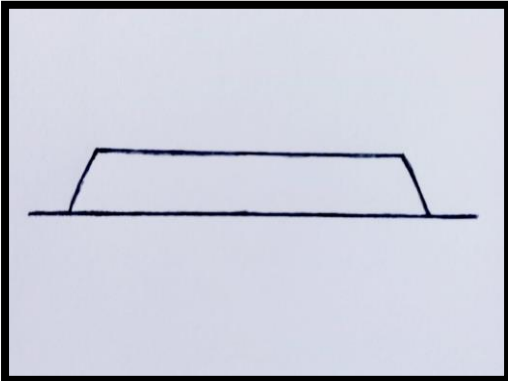
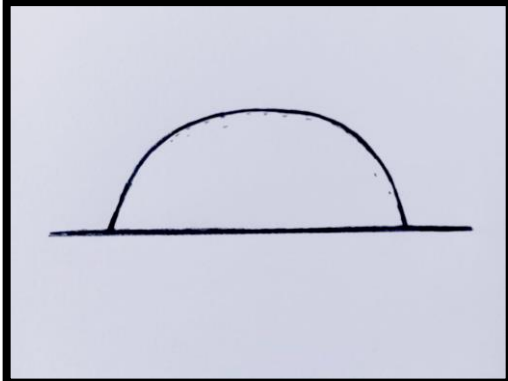
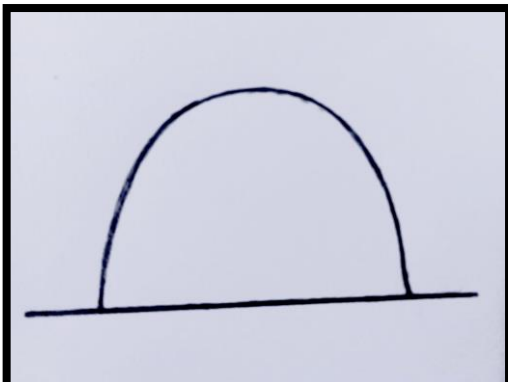
Nota: Placas de 90 mm de diámetro con rangos de UFC no menor a 30 y no mayor a 300 UFC.

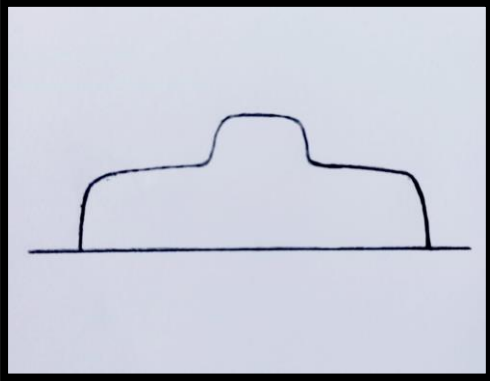
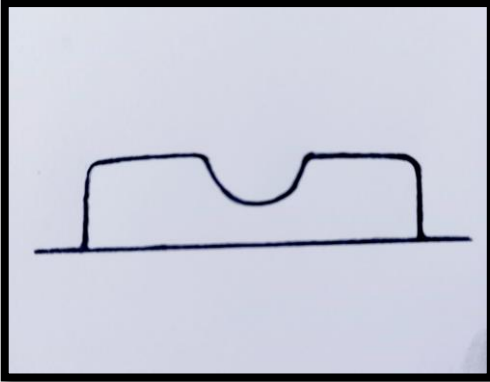
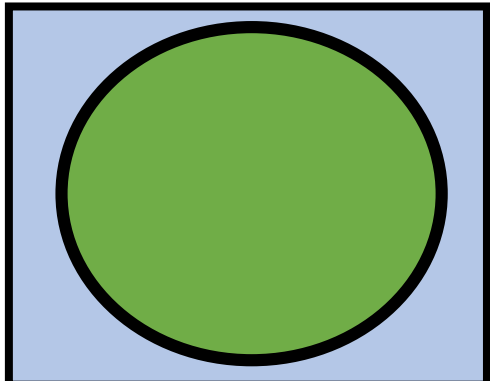
Elaborado por: (Hugo Mendoza, 2022).

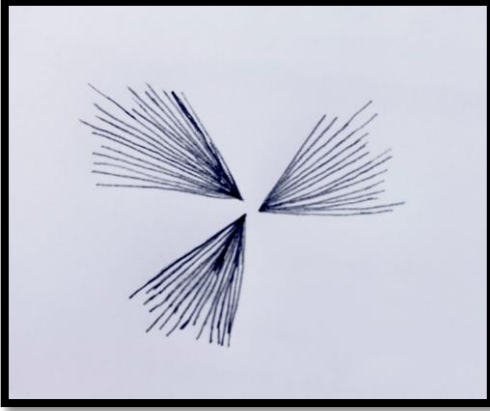
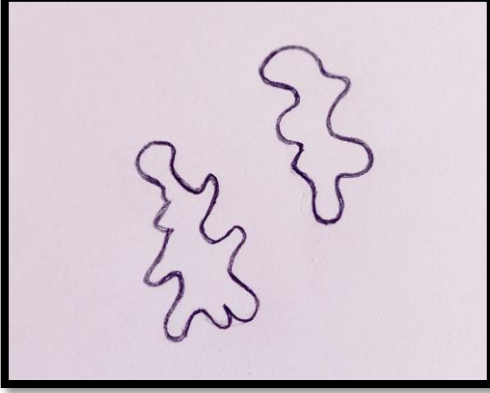
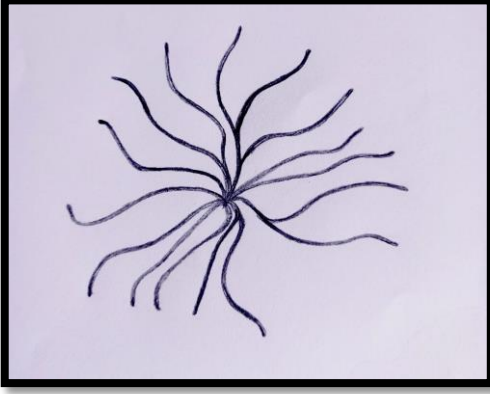
2.8.2.3. Caracterización cultural de los aislados bacterianos con capacidad solubilizadora de fosfatos.


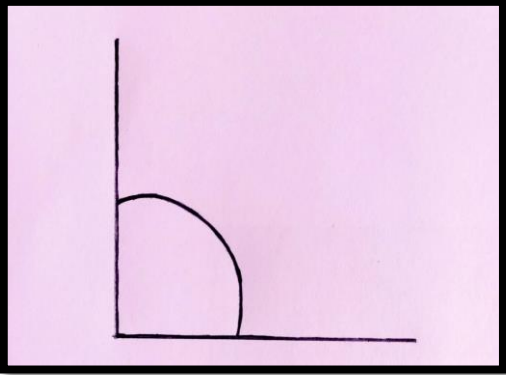
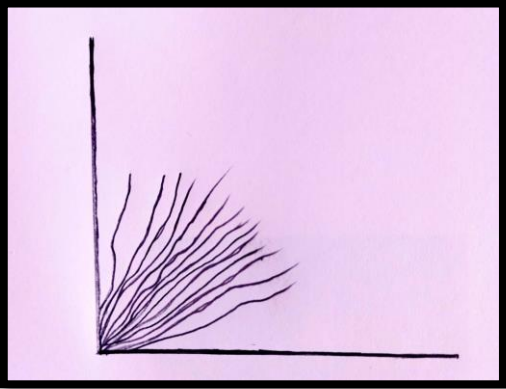
Se estableció la caracterización de las colonias bacterianas según lo establecido por (Vargas & Kuno, 2014), y para ello evaluamos: Elevación, forma, borde, consistencia, color y textura. Acorde a la (Tabla 5).

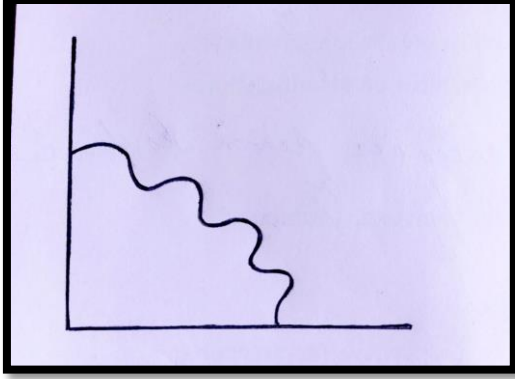
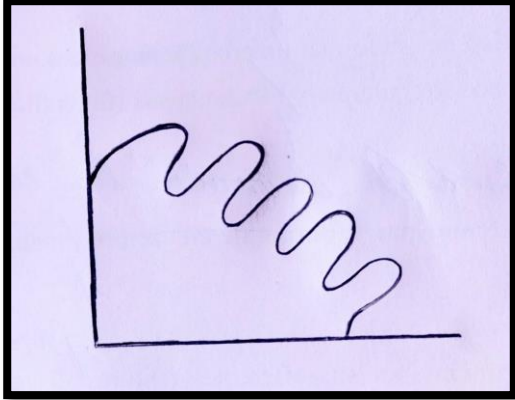
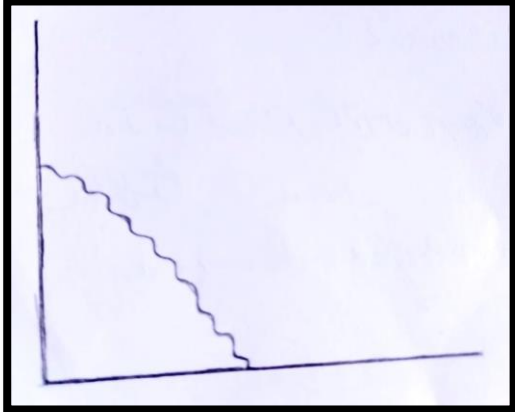
Tabla 5. *Características culturales las colonias bacterianas.*

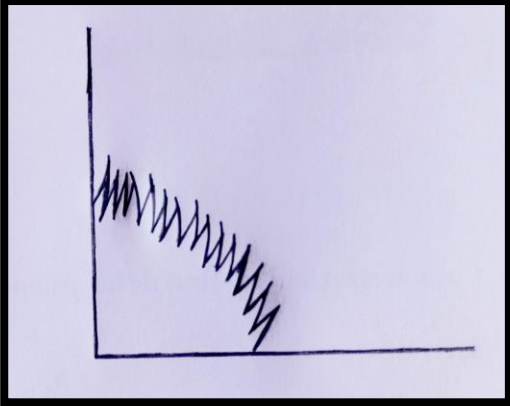

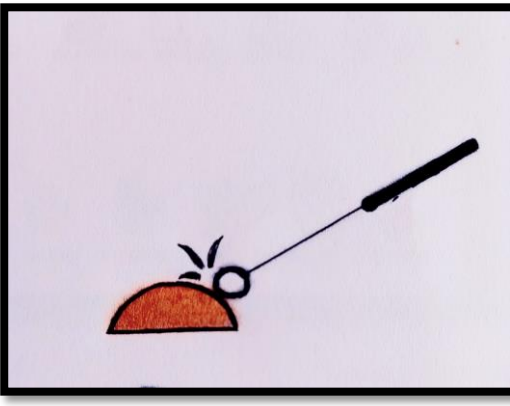
Elevación	Descripción	Figura
Plana	Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo con una elevación plana observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.	
Convexa	Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo con una elevación que tiende a elevarse denominada convexa, observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.	
Elevada	Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo con una elevación muy alta que sobresale en la colonia, observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.	

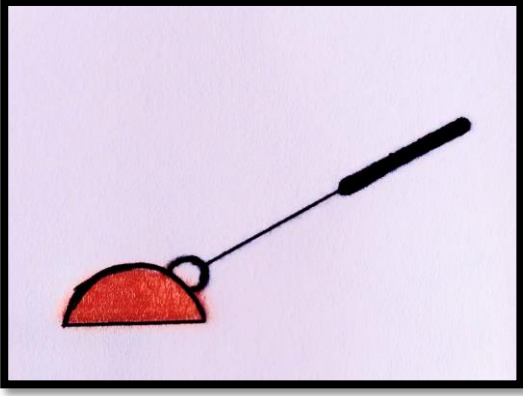
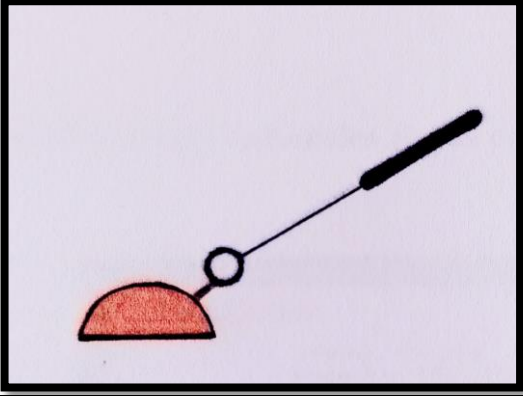


Umbeliforme	Se presenta en la caj Petri con medio de cultivo con una elevación similar a una umbela o sombrilla, observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.	
Umbilicada	Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo con una elevación que tiene la forma de ombligo hacia adentro, observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.	
Forma	Descripción	Figura
Circular	Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo en forma de circunferencia, observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.	


<p>Filamentosa</p>	<p>Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo en forma de filamentos, observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.</p>	
<p>Irregular</p>	<p>Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo en forma irregular con bordes no definidos, observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.</p>	
<p>Rizoide</p>	<p>Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo similar a la forma de una raíz, observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.</p>	

Fusiforme	Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo tiene forma de huso (forma alargada, elipsoide), observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.	
Bordes	Descripción	Figura
Entero	Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo con bordes enteros (homogéneos en su recorrido), observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.	
Filamentoso	Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo con bordes filamentosos (finos filamentos en los alrededores de las colonias), observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.	

<p>Ondulado</p>	<p>Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo con bordes Ondulados, (bordes curvados irregulares) observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.</p>	 <p>Diagrama que muestra un borde ondulado en un Petri dish. La línea que representa el borde comienza en el eje vertical y se extiende hacia el eje horizontal, formando una serie de curvas irregulares y onduladas.</p>
<p>Lobulado</p>	<p>Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo con bordes lobulados similar a los bordes ondulados, (bordes curvados irregulares) observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.</p>	 <p>Diagrama que muestra un borde lobulado en un Petri dish. La línea que representa el borde comienza en el eje vertical y se extiende hacia el eje horizontal, formando una serie de lóbulos o curvas más pronunciadas y irregulares que las del tipo ondulado.</p>
<p>Rizado</p>	<p>Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo con bordes rizados (bordes en forma de rizos alrededor de la colonia), observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.</p>	 <p>Diagrama que muestra un borde rizado en un Petri dish. La línea que representa el borde comienza en el eje vertical y se extiende hacia el eje horizontal, formando una serie de rizos o curvas muy pequeñas y frecuentes, dando un aspecto de escalera o serrado.</p>

Aserrado	Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo con bordes aserrados (márgenes con forma de dientes agudos), observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.	
Rizoide	Se presenta en la caja Petri con medio de cultivo con bordes rizoides (márgenes con forma de raíces interceptadas desde la colonia), observable a simple vista o con el uso del microscopio estereoscópico.	
Consistencia	Descripción	Figura
Dura	Presenta una consistencia muy rígida al momento de manipularla con el asa bacteriana.	

Suave	Presenta una consistencia ligera al momento de manipularla con el asa bacteriana.	
Mucoide	Presenta una apariencia de moco con consistencia viscosa, al momento de manipularla con el asa bacteriana.	
Textura	Descripción	Figura
Lisa	La superficie de la colonia no presenta esperezas, desigualdades o arrugas.	
Rugosa	La superficie de la colonia presenta esperezas, desigualdades o arrugas.	

Color	Descripción	Figura
Clave de colores Pantone	Se caracterizaron los aislados en base clave numérica de la tabla de colores Pantone.	

Fuente: (Salazar et al., 2019) & (Hugo Mendoza, 2022).

2.8.2.4. Tinción de Gram, para determinar la morfología bacteriana.

Para la Tinción de Gram se siguió el proceso empleado por **Khan et al., (2018)**. Se colocó una gota de agua destilada y se agregó con la asa bacteria una muestra bacteriana diseminando en el portaobjetos de microscopio y se dejó secar. Posteriormente se tiñó con cristal violeta como base de tinción primaria durante un minuto y enjuagamos con agua destilada. Luego el portaobjetos se trató con solución de lugol como mordiente durante 2 minutos y se enjuagó con agua. En el siguiente paso el portaobjetos se decoloró rápidamente 10 segundos con alcohol acetona y se enjuagó. Luego el portaobjetos se le adicionó con safranina durante 2 minutos y se enjuagó. Por último se dejó secar los portaobjetos para posteriormente realizar las observaciones microscópicas. Acorde con la **Figura 5**.

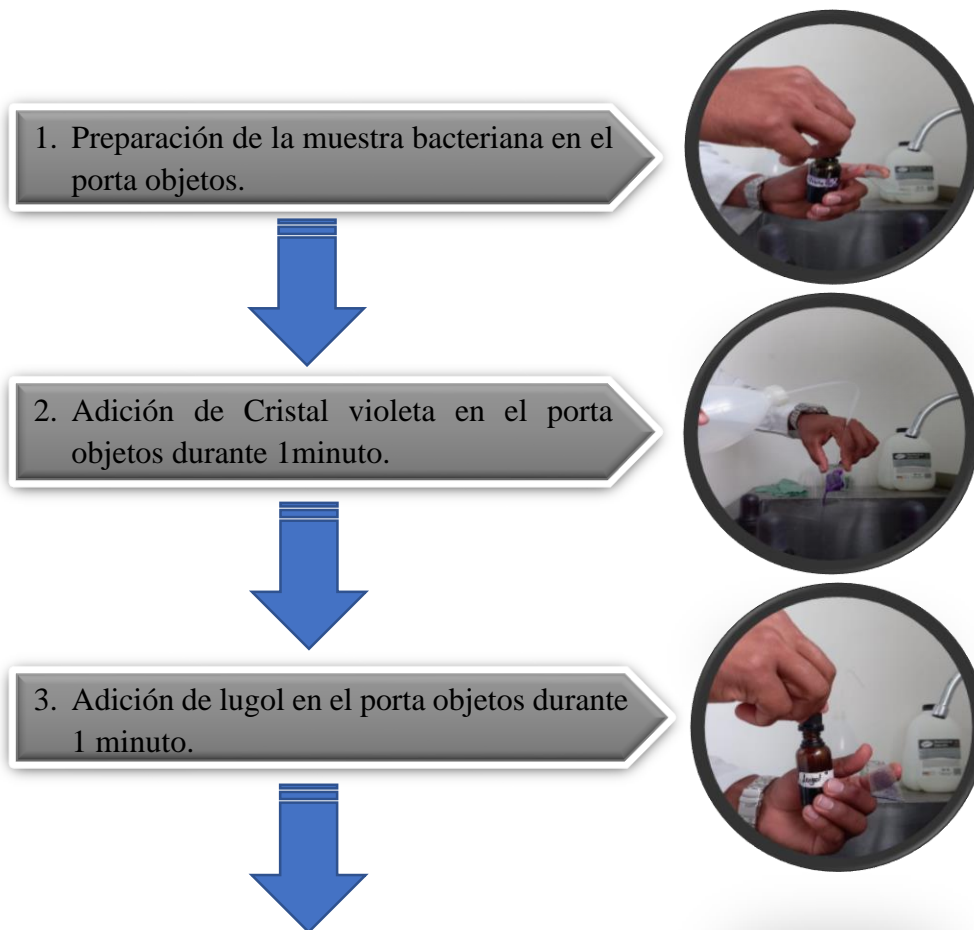
Se les denominaron bacterias Gram (+) a aquellas que retuvieron el colorante azul violeta y se les denominó bacterias Gram (-) a aquellas que se decoloraron y luego se tiñeron con Safranina. La tinción de estos colorantes se debieron a la estructura de las paredes celulares de las bacterias. Acorde con la **(Tabla 6)**.

Tabla 6. Diferenciación reacción de Gram de las bacterias.

Componentes	Gram (+)	Gram (-)
Coloración con la tinción de Gram	Violeta	Rojo - rosado
Pared celular	Gruesa	Fina
Presencia de lipopolisacáridos en la pared celular	No	Si
Presencia de ácidos lipoteicoicos y teicoicos en la pared celular	Si	No

Fuente: (Rodríguez & Arenas, 2018).

Figura 5. Diagrama de flujo de actividades para la tinción de Gram.



4. Adición de alcohol acetona en el porta objetos durante 10 segundos y su posterior enjuague con agua destilada.



5. Por último se adicionó la safranina en el porta objetos durante 2 minutos.



Elaborado por: (Hugo Mendoza, 2022).

2.8.2.5. Caracterización morfológica de las bacterias solubilizadoras de fosfatos.

1. Una vez realizada la tinción de Gram se dejaron secar los portaobjetos.
2. Posteriormente agregaron gotas de aceite de inmersión por cada portaobjetos con la etiqueta de cada cepa bacteriana.
3. Por último se observaron la morfología y agrupación de las bacterias en el microscopio a través del objetivo 100 X utilizando aceite de inmersión.

La caracterización morfológica y agrupación de las bacterias se llevaron a cabo acorde con los fundamentos sugeridos por **Vargas & Kuno (2014)**, donde se caracterizaron las bacterias de la siguiente manera:

- Se observaron tres formas básicas de las bacterias:

1. **Cocos:** bacterias esféricas
2. **Bacilos:** estructuras alargadas.
3. **Espirilos:** bacterias con formas curvadas y en espiral.

Para el tipo de agrupación se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

- **Cocos:**

Diplococos: luego de su división permanecen en pares.

Tétradas: cuando muestra una división en dos direcciones perpendiculares, llegando a formar una agrupación de cocos en una disposición cuadrada.

Sarcinas: Estas se las caracterizara por la división de los cocos en 3 direcciones perpendiculares, mostrando una agrupación de cocos en una disposición cúbica.

Estreptococos: Se caracterizaran por tener una división en un solo plano, formando secuencias de cuatro o más células en forma de cadena.

Estafilococos: se forman por agrupaciones desiguales de cuatro o más cocos, semejante a un racimo de uva.

- **Bacilos:**

Diplobacilos: se refiere a dos bacilos agrupados en pares.

Streptobacilos: formadas por agrupación similar a una cadena se encuentran 4 o más bacilos.

Empalizado: Bacilos que se encuentran agrupados de lado a lado como palillos de fósforo.

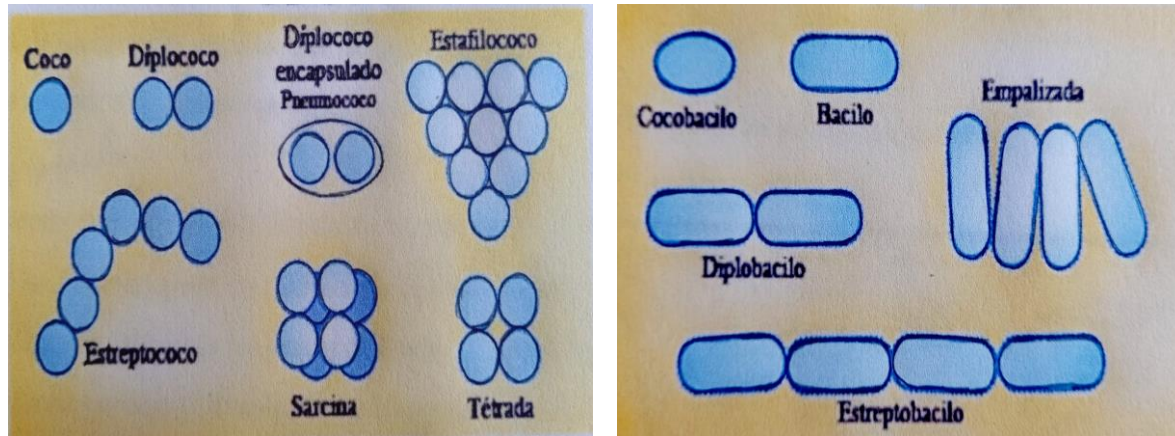
Cocobacilos: con forma semicircular una semejante combina entre la forma de cocos y bacilos.

Acorde con la **Figura 6.**

Figura 6. Morfología y agrupación de los aislados bacterianos.

1. Cocos - Agrupación

2. Bacilos - Agrupación



Fuente: (Ruiz, 2006).

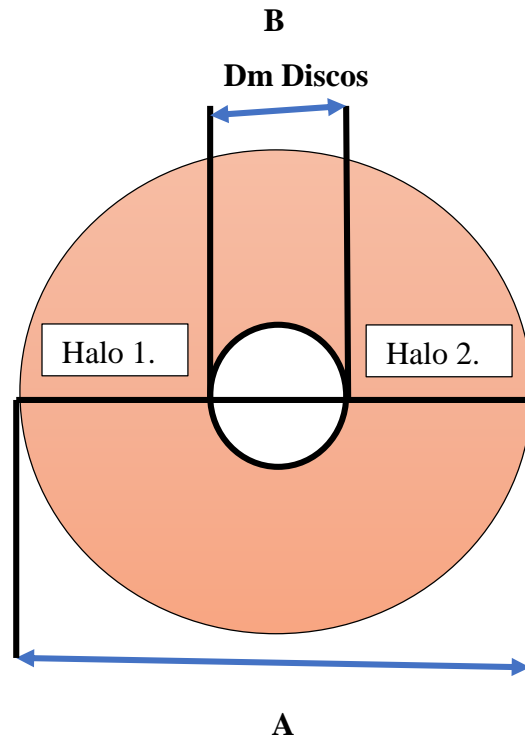
2.8.2.6. Evaluación cuantitativa de la solubilización de fosfatos.

Para evaluar la capacidad de solubilización se midió el Índice de solubilización de fosfatos (ISF) en base a lo referido por **Gayosso et al. (2017)** con los siguientes pasos:

1. Los aislados bacterianos obtenidos fueron reaislados en medio de cultivo Agar Pikovskaya y se inocularon en tubos de ensayo que contenían 5 ml de caldo nutritivo cerebro corazón (BHI) y se incubaron por 2 días a 28° C.
2. Una vez pasado el tiempo de incubación se procedió a realizar la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro y ajustar al valor de 0,3.
3. Luego se inocularon las soluciones bacterianas con 1,5 microlitros en disco blancos (BLANK DISCS CT998 (OXOID)) con 5 repeticiones al azar por caja de Petri.
4. Finalmente, se pusieron a incubar por 5 días a una temperatura de 28°C. Los halos de solubilización se midieron con un pie de Rey.
5. Para calcular el índice de solubilización se basó en la fórmula empleada por **Lara et al., (2011)** la cual fue modificada, debido a que para medir los halos de crecimiento se utilizaron discos

blancos de 6 mm de diámetro los cuales fueron inoculados quedando de la siguiente manera:
 $ISF = A/B$ donde $A = ((\text{halo 1} + \text{halo 2}) + D_m \text{ discos})$ y $B = D_m \text{ discos}$. Acorde con la **Figura 7**.

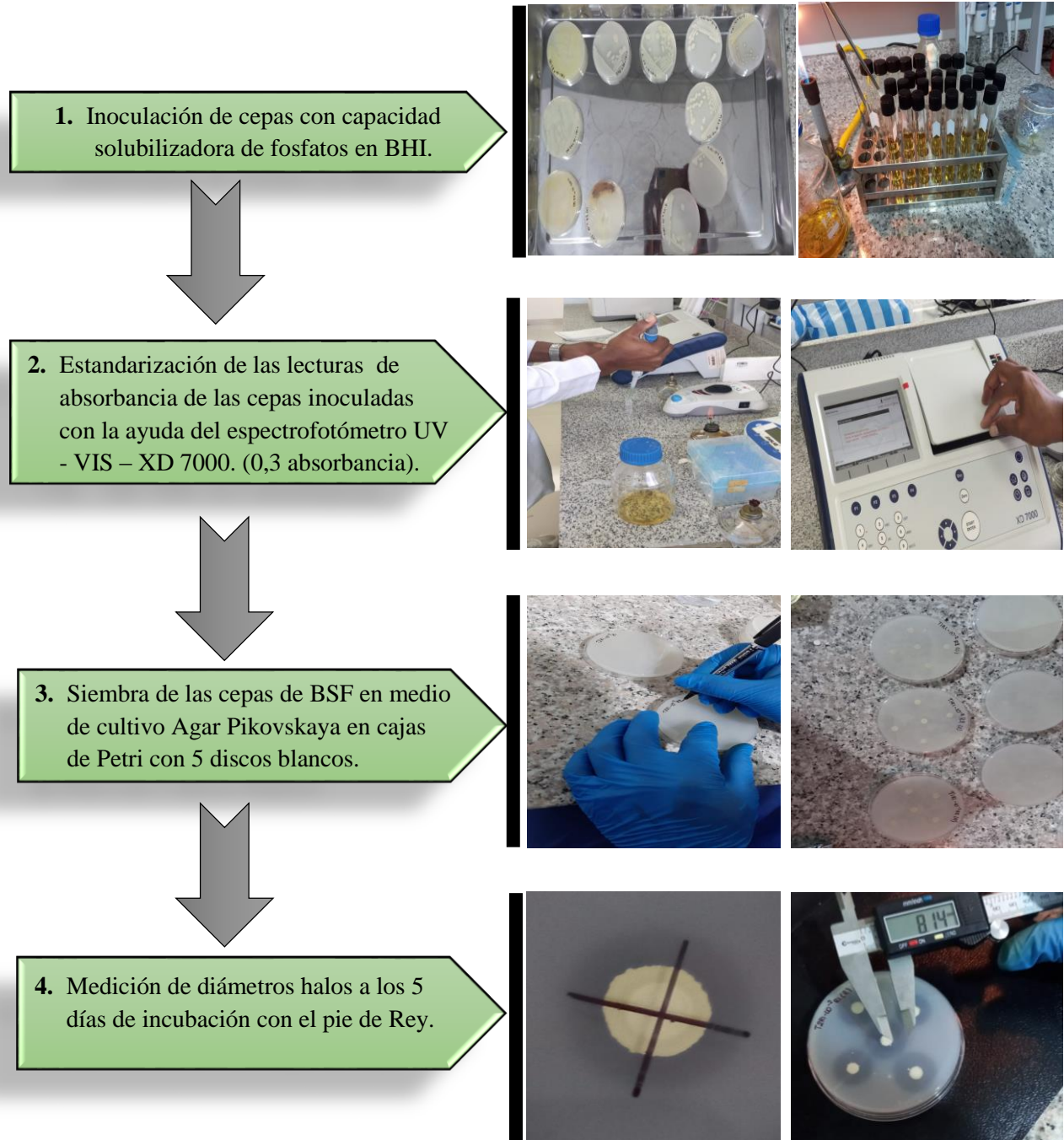
Figura 7. Índice de solubilización de fosfatos a partir de los halos de solubilización.



Elaborado por: (Hugo Mendoza, 2022).

6. Se seleccionaron los aislados bacterianos con mayor capacidad solubilizadora de fosfatos.

Figura 8. Diagrama de flujo de la evaluación cuantitativa de la capacidad de solubilización de fosfatos en medio de cultivo Agar Pikovskaya.



Elaborado por: (Hugo Mendoza, 2022).

La conservación de las cepas bacterianas con capacidad de solubilización de fosfatos se basó en los fundamentos descritos por **Ávila et al., (2006)** quienes mencionaron que el glicerol es un criopreservante penetrante que tiene la capacidad de impedir la acumulación de electrólitos y la formación de cristales de hielo que rompen la membrana de las bacterias durante el congelamiento. Se utilizaron dos formas de crioconservación: La primera utilizó glicerol al 25 %, mientras que la segunda utilizó glicerol al 20 % acompañado con caldo nutritivo BHI.

2.9. Variables respuesta.

Para la caracterización de las colonias bacterianas se evaluaron las siguientes variables: elevación, forma, bordes, brillo, color y textura de las colonias.

Mediante el uso de un microscopio estereoscopio se hizo la caracterización de las colonias bacterianas: elevación, forma, bordes, brillo, color y textura de las colonias de acuerdo con imágenes de la (**Tabla 5**).

Morfología de las bacterias solubilizadoras de fosfatos.

Mediante la tinción de Gram se determinó la morfología de las bacterias solubilizadoras de fosfatos aisladas a partir de las raíces de las plantas de papa acorde con el diseño de cada tratamiento.

Agrupación de las bacterias solubilizadoras de fosfatos aisladas a partir de muestras de suelo donde crecían plantas de papa.

Mediante la tinción de Gram se determinó la agrupación de las bacterias solubilizadoras de fosfatos de los tratamientos establecidos.

Reacción de Gram (Gram (+) o Gram (-)).

Mediante la tinción de Gram se determinó el tipo de reacción [Gram (+) o Gram (-)] de las bacterias solubilizadoras de fosfatos de los tratamientos.

Capacidad de solubilización de fosfatos por bacterias asociadas a raíces de plantas de papa.

Se determinó la capacidad de solubilización de fosfatos de las bacterias mediante el análisis de la longitud del halo de solubilización con un pie de Rey, donde la longitud del halo de cada cepa aislada a partir del suelo donde crecían las plantas de *S. tuberosum* L. Var. Superchola mostraron actividad solibilizadora de fosfatos.

2.10. Procesamiento de la información.

Los datos de las evaluaciones de cada experimento fueron registrados en un cuaderno así como un Excel. Estos posteriormente fueron analizados mediante el paquete estadístico SPSS versión 26.0. Para ello se evaluaron los criterios de distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov y para determinar la homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Levene. Para aquellas variables cuyos datos cumplieron con ambos requerimientos se realizó un ANOVA de clasificación simple. Para separar las medias se utilizó la prueba de Tuckey. Para las variables cuyos datos no cumplieron con los requerimientos de normalidad ni homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Kruskal Wallis completada con la prueba U Mann Whitney. Para un nivel de significación de un 95 %.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. Evaluación de la capacidad de solubilización de fosfatos por bacterias asociadas con la rizosfera de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.

3.1.1. Cantidad de UFC por gramo de suelo de las cuatro localidades de la Provincia de Tungurahua (El Placer – cantón Quero, Pinguilí – cantón Mocha, Llangahua – Ambato y la localidad de Santa Rita – Píllaro).

En la comparación de las unidades formadoras de colonia por gramos de suelo luego de un periodo de 48 horas de incubación de las localidades de Quero, Mocha, Ambato, Píllaro y el tratamiento testigo se observaron diferencias estadísticamente significativas, siendo la localidad de Santa Rita del Cantón Píllaro la que mayor rango promedio de UFC. g^{-1} suelo tuvo, mientras que el menor rango promedio de cantidad de UFC. g^{-1} correspondieron al tratamiento control el cual no tuvo diferencia estadísticamente significativas respecto a la localidad de Llangahua perteneciente al cantón Ambato (**Tabla 7**).

Tabla 7. Comparación de unidades formadoras de colonias por gramo de suelo procedentes de diferentes localidades (Quero, Mocha, Ambato, Píllaro) de la provincia de Tungurahua utilizando el medio de cultivo Agar Pikoskaya.

Localidades	Unidades formadoras de colonias (UFC. g^{-1} de suelo)	
	\bar{x}	Rango promedio
Suelo del sector el Placer del cantón Quero.	$5,66 \times 10^6$	27,44 b
Suelo del sector Pinguilí del cantón Mocha.	$2,057 \times 10^6$	17,17 c

Suelo del sector Llangahua del cantón Ambato.	4,21 x 10 ⁶	21,56 bc
Suelo del sector Santa Rita del cantón Píllaro.	9,72 x 10 ⁹	41,00 a
Raíces de papa sin suelo	1,58 x 10 ⁵	7,83 c

Nota: Tratamientos con letras diferentes en una misma columna, difieren estadísticamente según la prueba H de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para P<0.05.

En la investigación realizada por **Paucar et al. (2011)** mencionaron que en suelos de la sierra ecuatoriana se encontró un promedio de 2,30 x 10⁶ unidades formadoras de colonia por gramo de suelo seco, mientras que en Tungurahua la mayor cantidad de UFC.g⁻¹ suelo seco se encontró en el cultivo de mora por encima del cultivo de papa con 1,24 x 10⁵ UFC.g⁻¹ de suelo seco, sin embargo en esta investigación se obtuvo que la mayor cantidad de UFC.g⁻¹ suelo se obtuvieron en la localidad de Santa Rita del Cantón Píllaro de la provincia de Tungurahua con 9,72 x 10⁹ UFC.g⁻¹ de suelo.

De acuerdo con **Calvo et al. (2008)** la abundante población bacteriana en suelos rizosféricos a comparación de otros microorganismos se debe a su acelerado crecimiento y la capacidad que tienen para favorecerse de sustratos como fuentes de C y N. La cantidad poblacional bacteriana que se encuentra en el suelo depende de factores como: tipo de suelo, temporada climática, porcentaje de humedad en el suelo, tipo de vegetación, laboreos del suelo, y la fertilización.

La aplicación de prácticas agrícolas conlleva a la reducción de la población bacteriana tal como encontró **Hernández et al. (2013)** en su investigación sobre el efecto de las prácticas agrícolas sobre las poblaciones bacterianas de suelos agrícolas, halló que hay efectos negativos a partir de algunas prácticas agrícolas que incluyen los tipos de labranzas y la aplicación de agroquímicos donde observó que hubo mayor población bacteriana en cultivos como la *Medicago*

sativa L. y de *Junglans regia* L. lo contrario a las muestras de suelos procedentes del cultivo de papa con la aplicación intensiva de agroquímicos y diferentes tipos de labranza dando como resultado una menor población bacteriana.

3.1.2. Caracterización de las colonias y la morfología de los aislados bacterianos procedentes de diferentes localidades (El Placer – cantón Quero, Pinguilí - cantón Mocha, Llangagua – Ambato y Santa Rita - cantón Píllaro) de la provincia de Tungurahua utilizando el medio de cultivo Agar Pikoskaya.

3.1.2.1. Caracterización de las colonias y morfología de los aislados bacterianos de la localidad de El Placer – cantón Quero.

En la caracterización de los aislados bacterianos en medio de cultivo Agar Pikovskaya a las 48 horas de incubación se obtuvieron colonias que presentaron las diferentes características culturales que se muestran en la **(Tabla 8)**. De los 7 aislados bacterianos con capacidad solubilizadora de fosfatos en las características culturales el 43 % mostraron elevación umbeliforme, 29 % umbilicadas, 14 % convexa y el 14 % planas.

Respecto a su forma el 71 % fueron circular y el 29 % irregular. Por sus bordes el 72 % tuvo bordes enteros, 14 % rizados y el 14 % fueron lobulados. Por su brillo 57 % brillantes y el 43 % no presentaron brillo. Por su textura el 85 % fueron lisas, y el 15 % rugosas. En cuanto a la morfología bacteriana el 29 % fueron cocos, el 29 % bacilos cortos y el 42 % fueron bacilos largos. Por su agrupación, el 29 % fueron diplobacilos, 29 % diplococos, 14 % estreptobacilos, 14 % agrupación en empalizada y 14 % en sarcinas. Por la reacción de Gram, el 57 % fueron bacterias Gram (-) y el 43 % bacterias Gram (+).

Tabla 8. Caracterización de los aislados bacterianos del sector el placer del cantón Quero en medio Agar Pikovskaya.

Aislados de BSF	Caracterización cultural						Morfología			
	Elevación	Forma	Borde	Brillo	Código Pantone	Textura	Consistencia	Morfología	Agrupación	Reacción de Gram
CC-FCAGP-BSF1	#	+++	****	b	374	L	S	B	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF2	####	+	*	s	607	L	S	BL	EB	(-)
CC-FCAGP-BSF3	####	+	*	b	4525	L	M	BL	EMP	(-)
CC-FCAGP-BSF4	####	+	*	b	4525	R	M	B	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF5	##	+++	R*	b	4525	L	M	C	Sar	(+)
CC-FCAGP-BSF6	###	+	*	s	607	L	S	BL	DC	(+)
CC-FCAGP-BSF7	###	+	*	s	607	L	S	C	DC	(+)

Descripción: Elevación: Plano (#), Convexo (##), Umbeliforme (###), Umbilicado (####). Borde: entero (*), filamentosos (**), ondulado (***), aserrado (****), lobulado (*****), Rizado (R*). Forma: circular (+), filamentosos (++) , irregular (+++), rizoide (++++), fusiforme (f+). Brillo: sin brillo (s), con brillo (b). Color: clave Pantone. Textura: lisa (L), rugosa (R). Morfología: bacilos largos (BL), bacilos cortos (BC), coco bacilos (CB), cocos (C). Agrupación: diplococo (DC), diplobacilos (DB) sarcina (Sar), estreptobacilo (EB), emaplizada (EMP).

3.1.2.2. Caracterización de las colonias y morfología de los aislados bacterianos de la localidad de Pinguilí – cantón Mocha.

En la caracterización de los aislados bacterianos en medio de cultivo Agar Pikovskaya a las 48 horas de incubación se obtuvieron colonias que presentaron diferentes características culturales las cuales se muestran en la (Tabla 9). De los 9 aislados bacterianos con capacidad solubilizadora de fosfatos en las características culturales de la elevación, el 44 % fueron umbeliforme, 34 %

convexas y el 22 % umbilicadas. En su forma el 56 % fusiforme, 33 % circular y el 11 % irregular. Por sus bordes, el 89 % enteros y el 11 % rizados. Por su brillo, el 100 % de las colonias fueron brillantes ante la luz reflejada. Por su textura, el 100 % fueron lisas. Por su consistencia, el 56 % fueron mucoide y el 44 % suave. En cuanto a la morfología bacteriana el 89 % fueron bacilos cortos y el 11 % bacilos largos. Por su agrupación el 56 % fueron diplobacilos y el 44 % formaron agrupaciones en empalizada. Por la reacción de Gram el 100 % fueron bacterias Gram (-).

Tabla 9. Caracterización de los aislados bacterianos del sector Pinguilí del cantón Mocha en medio Agar Pikovskaya.

Aislados de BSF	Caracterización cultural							Morfología			
	Elevación	Forma	Borde	Brillo	Código	Pantone	Textura	Consistencia.	Morfología	Agrupación.	Reacción de Gram
CC-FCAGP-BSF8	###	+++	R*	b	698		L	M	B	EMP	(-)
CC-FCAGP-BSF9	####	+	*	b	607		L	M	B	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF10	##	f+	*	b	4525		L	M	B	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF11	###	f+	*	b	698		L	S	BL	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF12	##	f+	*	b	374		L	S	B	EMP	(-)
CC-FCAGP-BSF13	###	f+	*	b	4525		L	S	B	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF14	###	f+	*	b	4525		L	M	B	EMP	(-)
CC-FCAGP-BSF15	####	+	*	b	374		L	S	B	EMP	(-)
CC-FCAGP-BSF16	##	+	*	b	698		L	M	B	DB	(-)

Descripción: Elevación: Plano (#), Convexo (##), Umbeliforme (###), Umbilicado (####). Borde: entero (*), filamentosos (**), ondulado (***), aserrado (****), lobulado (L*), Rizado (R*). Forma: circular (+), filamentosos (++) , irregular (+++), rizoide (++++), fusiforme (f+). Brillo: sin brillo (s), con brillo (b). Color: clave Pantone. Textura: lisa (L), rugosa (R). Consistencia: Suave (S), Mucoide (M). Morfología: bacilos largos (BL), bacilos cortos (BC), coco bacilos (CB), cocos (C), Bacilos (B). Agrupación: diplococo (DC), diplobacilos (DB) sarcina (Sar), estreptobacilo (EB), empalizada (EMP).

3.1.2.4. Caracterización de las colonias y morfología de los aislados bacterianos de la localidad de Llangahua – cantón Ambato.

En la caracterización de los aislados bacterianos en medio de cultivo Agar Pikovskaya a las 48 horas de incubación se obtuvieron colonias que presentaron diferentes características culturales que se muestran en la (**Tabla 10**). De los 10 aislados bacterianos con capacidad solubilizadora de fosfatos en las características culturales de elevación el 40 % fueron planas, 40 % convexas, 10 % umbeliforme y el 10 % umbilicadas. En su forma, presentaron que el 90 % fueron circular y el 10 % fusiforme. Por sus bordes, el 100 % de las colonias tuvieron bordes enteros. Por su brillo el 100 % de las colonias mostraron brillo ante la luz reflejada. Por su textura, el 100 % fueron lisas. En la morfología bacteriana el 50 % fueron bacilos, el 40 % cocos y el 10 % bacilos cortos. Por su agrupación, el 30 % fueron diplobacilos, 30 % en empalizada, 20 % estreptobacilos, 10 % diplococos y 10 % se agruparon en sarcinas. Por la reacción de Gram, el 90 % bacterias Gram (-) y el 10 % bacterias Gram (+).

Tabla 10. Caracterización de los aislados bacterianos del sector Llangahua del cantón Ambato en medio Agar Pikovskaya.

Aislados de BSF	Caracterización cultural							Morfología			
	Elevación	Forma	Borde	Brillo	Código Pantone	Textura	Consistencia	Morfología	Agrupación	Reacción de Gram	
CC-FCAGP-BSF17	###	+	*	b	374	L	S	B	EB	(-)	
CC-FCAGP-BSF18	#	f+	*	b	102	L	S	B	EB	(-)	
CC-FCAGP-BSF19	####	+	*	b	110	L	S	B	EMP	(-)	
CC-FCAGP-BSF20	#	+	*	b	374	L	S	C	EMP	(-)	
CC-FCAGP-BSF21	##	+	*	b	607	L	S	C	DC	(-)	
CC-FCAGP-BSF22	##	+	*	b	698	L	S	B	DB	(-)	
CC-FCAGP-BSF23	#	+	*	b	401	L	S	BC	DB	(-)	
CC-FCAGP-BSF24	##	+	*	b	600	L	S	C	Sar	(+)	
CC-FCAGP-BSF25	##	+	*	b	607	L	S	B	DB	(-)	
CC-FCAGP-BSF26	#	+	*	b	698	L	S	C	EMP	(-)	

Descripción: Elevación: Plano (#), Convexo (##), Umbeliforme (###), Umbilicado (####). Borde: entero (*), filamentoso (**), ondulado (***), aserrado (****), lobulado (L*), Rizado (R*). Forma: circular (+), filamentosa (++), irregular (+++), rizoide (++++), fusiforme (f+). Brillo: sin brillo (s), con brillo (b). Color: clave Pantone. Textura: lisa (L), rugosa (R). Consistencia: Suave (S), Mucoide (M). Morfología: bacilos largos (BL), bacilos cortos (BC), coco bacilos (CB), cocos (C), Bacilos (B). Agrupación: diplococo (DC), diplobacilos (DB) sarcina (Sar), estreptobacilo (EB), emaplizada (EMP).

3.1.2.5. Caracterización de las colonias y morfología de los aislados bacterianos de la localidad de Santa Rita – cantón Píllaro.

En la caracterización de los aislados bacterianos en medio de cultivo Agar Pikovskaya a las 48 horas de incubación se obtuvieron colonias que presentaron diferentes características culturales las cuales se muestran en la (Tabla 11). De los 10 aislados bacterianos con capacidad solubilizadora de fosfatos en cuanto a la elevación, el 60 % fueron planas, 20 % convexas, 10 % umbilicadas y el 10 % umbeliforme. En su forma, el 80 % fueron circular, 10 % fusiforme y el 10 % irregular. Por sus bordes, el 70 % de las colonias mostraron bordes enteros y el 30 % irregulares. Por su brillo, el 100 % de las colonias mostraron brillo ante la luz reflejada. Por su textura, el 80 % de las colonias mostraron superficies lisas y el 20 % rugosas. Por la consistencia de las colonias, el 100 % fueron suaves. En la morfología bacteriana el 60 % fueron bacilos cortos, el 30 % bacilos y el 10 % fueron cocos. Por su agrupación, el 70 % fueron diplobacilos, 20 % agrupados en empalizada y el 10 % fueron diplococos. Por la reacción de Gram el 80 % fueron Gram (-) y el 20 % Gram (+).

Tabla 11. Caracterización de los aislados bacterianos del sector Santa Rita del cantón Píllaro en medio Agar Pikovskaya.

Aislados de BSF	Caracterización cultural							Morfología			
	Elevación	Forma	Borde	Brillo	Código	Pantone	Textura	Consistencia	Morfología	Agrupación	Reacción de Gram
CC-FCAGP-BSF27	#	+	*	b	401	L	S	S	B	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF28	#	+	*	b	607	L	S	S	BC	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF29	###	+	*	b	401	L	S	S	B	EMP	(+)

CC-FCAGP-BSF30	#	+	L*	b	401	R	S	B	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF31	##	+	*	b	600	L	S	BC	EMP	(-)
CC-FCAGP-BSF32	####	f+	*	b	401	L	S	C	DC	(+)
CC-FCAGP-BSF33	##	+	*	b	600	L	S	BC	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF34	#	+	L*	b	374	R	S	BC	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF35	#	+	*	b	401	L	S	BC	DB	(-)
CC-FCAGP-BSF36	#	+++	L*	b	401	L	S	BC	DB	(-)

Descripción: Elevación: Plano (#), Convexo (##), Umbeliforme (###), Umbilicado (####). Borde: entero (*), filamentoso (**), ondulado (***), aserrado (****), lobulado (L*), Rizado (R*). Forma: circular (+), filamentososa (++) , irregular (+++), rizoide (++++), fusiforme (f+). Brillo: sin brillo (s), con brillo (b). Color: clave Pantone. Textura: lisa (L), rugosa (R). Consistencia: Suave (S), Mucoide (M). Morfología: bacilos largos (BL), bacilos cortos (BC), coco bacilos (CB), cocos (C), Bacilos (B). Agrupación: diplococo (DC), diplobacilos (DB) sarcina (Sar), estreptobacilo (EB), emaplizada (EMP).

3.1.2.7. Caracterización de las colonias y morfología de los aislados bacterianos del tratamiento control sin la presencia de suelo.

En la caracterización de los aislados bacterianos en medio de cultivo Agar Pikovskaya a las 48 horas de incubación se obtuvieron colonias que presentaron las diferentes características culturales que se muestran en la (**Tabla 12**). De los cuatro aislados bacterianos con capacidad solubilizadora de fosfatos en las características culturales en cuanto a la elevación, el 50% fueron umbeliforme, 25 % convexa y el 25 % planas. En su forma, el 75 % fueron circular y 25 % fusiforme. Por sus bordes, el 100 % fueron enteros. Por su brillo, las colonias el 100 % se presentaron brillantes ante el reflejo de la luz. Por su textura, el 100 % de las colonias fueron lisas. Por la consistencia de las colonias, el 100 % fueron suaves. En la morfología bacteriana el 50 % fueron bacilos y el otro 50 % bacilos cortos. Por su agrupación el 75 % fueron en empalizadas y el 25 % diplobacilos. Por la reacción de Gram, el 75 % Gram (-) y el 25 % fueron Gram (+).

Tabla 12. Caracterización de los aislados bacterianos del tratamiento control sin la presencia de suelo en medio de cultivo Agar Pikovskaya.

Aislados de BSF	Caracterización cultural							Morfología				
	Elevación	Forma	Borde	Brillo	Código	Pantone	Textura	Consistencia	Morfología	Agrupación	Reacción de Gram	
CC-FCAGP-BSF37	##	+	*	b	401	L	S	BL	DB	(-)		
CC-FCAGP-BSF38	###	f+	*	b	401	L	S	B	EMP	(+)		
CC-FCAGP-BSF39	###	+	*	b	352	L	S	BL	EMP	(-)		
CC-FCAGP-BSF40	#	+	*	b	374	L	S	B	EMP	(-)		

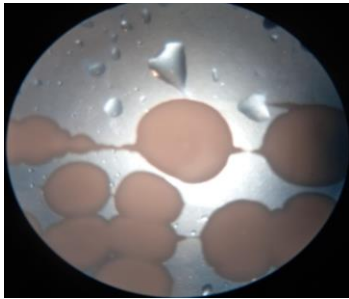
Descripción: Elevación: Plano (#), Convexo (##), Umbeliforme (###), Umbilicado (####). Borde: entero (*), filamentosos (**), ondulado (***), aserrado (****), lobulado (L*), Rizado (R*). Forma: circular (+), filamentosos (++), irregular (+++), rizoide (++++), fusiforme (f+). Brillo: sin brillo (s), con brillo (b). Color: clave Pantone. Textura: lisa (L), rugosa (R). Consistencia: Suave (S), Mucoide (M). Morfología: bacilos largos (BL), bacilos cortos (BC), coco bacilos (CB), cocos (C), Bacilos (B). Agrupación: diplococo (DC), diplobacilos (DB) sarcina (Sar), estreptobacilo (EB), empalizada (EMP).

De los 40 aislados bacterianos con capacidad solubilizadora de fosfatos se obtuvo de la localidad del Placer en el cantón Quero (**Tabla 8**) siete aislados de los cuales se obtuvieron 2 cocos Gram (+), 1 bacilo (+) y 5 bacilos (-). De la localidad de Pinguilí del cantón Mocha (**Tabla 9**) se obtuvieron 9 aislados con morfología bacilos Gram (-). De la localidad de Llangahua en el cantón Ambato (**Tabla 10**) se obtuvieron 6 bacilos Gram (-), 2 cocos Gram (-), 1 coco Gram (+). De la localidad de Santa Rita en el cantón Píllaro (**Tabla 11**) se obtuvieron 8 bacilos Gram (-), 1 bacilo (+), 1 coco (+) y en el tratamiento testigo de la (**Tabla 12**) se obtuvieron 3 bacilos Gram (-), 1 bacilo Gram (+). De acuerdo con **Mollinedo & González (2014)** la diferencia entre las bacterias Gram positivas y Gram negativas se encuentra en la estructura de la pared celular debido a que las bacterias Gram positivas se encuentra conformada por una capa gruesa de peptidoglicano y ácidos

teicoicos a diferencia de las bacterias Gram negativas la capa de peptidoglucano es más delgada que se encuentra unida por lipoproteínas a una membrana plasmática externa que es soluble en solventes orgánicos lo cual no retiene colorante cristal violeta.

En una investigación llevada a cabo por **Jorquera et al. (2010)** confirmaron que las fitasas tienen altas tasas de solubilización de fosfatos, de lo cual las bacterias Gram (+) de los géneros *Paenibacillus* y *Bacillus* tienen esporas que conllevan a ser resistentes en condiciones adversas, como es el caso de suelos volcánicos y pH altamente ácidos que tienen altas cantidades de fitato, deduciendo a que estas bacterias tienen capacidad de usar el fitato como principal fuente de P, debido a que tiene genes que fácilmente codifican a las enzimas fitasas y que además pueden desarrollarse con más facilidad que las bacterias Gram (+). Con la caracterización cultural y morfológica de las bacterias se pudo diferenciar las diferentes cepas que se encontraron en las localidades de Tungurahua. Acorde a las **(Figura 9 y Figura 10)**.

Figura 9. Caracterización cultural de los aislados bacterianos.



Elevación: Plana

Forma: Circular

Borde: Enteros

Brillo: Brillante

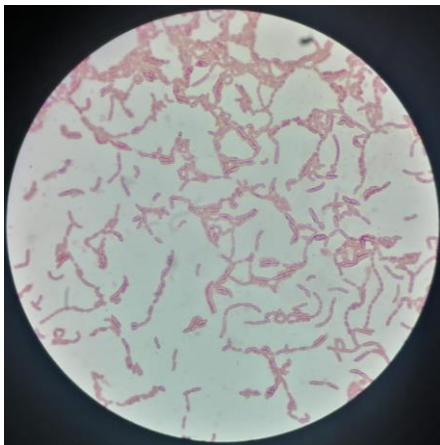
Color: 607 Pantone.

Textura: Lisa

Consistencia: Suave

Elaborado por: (Mendoza Hugo, 2022).

Figura 10. Morfología de los aislados bacterianos.



Morfología: Bacilos.

Agrupación: Diplobacilos.

Reacción: Gram (-).

Elaborado por: (Mendoza Hugo, 2022).

3.1.3. Determinación de la capacidad solubilizadora de fosfatos de los aislados bacterianos obtenidos.

Los aislados bacterianos procedentes del sector Pinguilí del cantón Mocha fueron los que mayores halos e índices de solubilización de fosfatos tuvieron con diferencias estadísticas significativas respecto al resto. Por otra parte, los aislados bacterianos del sector de El Placer del cantón Quero mostraron los menores halos e índices de solubilización de fosfatos. (**Tabla 13**).

Tabla 13. Halos de solubilización e índice de solubilización de fosfatos de aislados bacterianos procedentes de diferentes localidades (Quero, Mocha, Ambato, Píllaro) de la provincia de Tungurahua utilizando el medio de cultivo Agar Pikoskaya.

Localidades	Halos de solubilización		Índice de solubilización	
	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio
Aislados bacterianos de suelo del sector placer del cantón Quero.	2,18	33,64 d	1,73	33,63 d
Aislados bacterianos de suelo del sector Pinguilí del cantón Mocha.	6,70	147,38 a	3,23	147,40 a
Aislados bacterianos de suelo del sector Llangahua del cantón Ambato.	5,23	115,85 b	2,74	115,96 b
Aislados bacterianos de suelo del sector Santa Rita del cantón Píllaro.	4,20	86,81 c	2,40	86,79 c
Aislados bacterianos de raíces de papa sin suelo	4,85	107,88 bc	2,61	107,63 bc

Nota: Tratamientos con letras diferentes en una misma columna, difieren estadísticamente según la prueba H de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $P < 0.05$. $n = 35$.

En la evaluación del tamaño de halo e índice de solubilización de fosfatos de los aislados bacterianos de los cuatro cantones productores de papa de la provincia de Tungurahua, de los 40 aislados bacterianos el de mayor capacidad fue el (CC-FCAGP-BSF10) de la localidad de Pinguilí que no tuvo diferencia estadísticamente significativa respecto a los aislados CC-FCAGP-BSF12, CC-FCAGP-BSF19, CC-FCAGP-BSF13, CC-FCAGP-BSF15, CC-FCAGP-BSF14 y CC-FCAGP-BSF31. Mientras que el aislado de menor capacidad de solubilización de fosfato fue el (CC-FCAGP-BSF30) de la localidad de Santa Rita del cantón Píllaro, el cual no tuvo diferencia estadísticamente significativa respecto a la cepa CC-FCAGP-BSF5 proveniente de la localidad del Placer cantón Quero. (**Tabla 14**) y **Figura 11**.

Tabla 14. Comparación de los halos de solubilización e índice de solubilización de fosfatos entre aislados bacterianos de la provincia de Tungurahua utilizando el medio de cultivo Agar Pikoskaya.

Aislados bacterianos	Halos de solubilización de fosfatos		Índice de solubilización de fosfatos	
	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio
CC-FCAGP-BSF30	1,11	3,60 l	1,37	3,50l
CC-FCAGP-BSF5	1,35	9,40 kl	1,45	9,30kl
CC-FCAGP-BSF36	1,52	13,10 jk	1,51	13,20jk
CC-FCAGP-BSF1	1,91	25,00 i	1,64	25,20i
CC-FCAGP-BSF2	1,87	25,10 hi	1,62	25,50hi
CC-FCAGP-BSF3	2,15	31,70 hi	1,71	31,40hi
CC-FCAGP-BSF7	2,16	36,80h	1,72	36,70h
CC-FCAGP-BSF27	2,28	39,40h	1,76	39,30h
CC-FCAGP-BSF22	2,33	41,50h	1,78	41,60h
CC-FCAGP-BSF34	2,39	42,20h	1,80	42,20h
CC-FCAGP-BSF6	2,69	49,30gh	1,90	49,10gh

CC-FCAGP-BSF4	3,11	58,20fg	2,04	58,20fg
CC-FCAGP-BSF40	3,32	65,20fg	2,10	64,90fg
CC-FCAGP-BSF8	3,75	74,80fg	2,25	75,10fg
CC-FCAGP-BSF32	3,77	75,60fg	2,25	75,60fg
CC-FCAGP-BSF24	3,86	78,80fg	2,29	78,80fg
CC-FCAGP-BSF9	4,04	82,10fg	2,35	82,10fg
CC-FCAGP-BSF17	4,06	82,20fg	2,35	82,30fg
CC-FCAGP-BSF21	4,52	98,50ef	2,51	99,40e
CC-FCAGP-BSF38	4,77	99,60e	2,59	99,40e
CC-FCAGP-BSF16	4,79	101,90e	2,60	102,40e
CC-FCAGP-BSF33	4,99	108,70e	2,66	108,30e
CC-FCAGP-BSF25	5,05	110,80e	2,68	110,80e
CC-FCAGP-BSF23	5,21	119,00e	2,74	118,90e
CC-FCAGP-BSF29	5,52	122,70e	2,84	122,90e
CC-FCAGP-BSF39	5,39	126,10e	2,79	125,90e
CC-FCAGP-BSF20	5,60	130,40d	2,87	130,60d
CC-FCAGP-BSF35	5,73	132,30d	2,91	132,40d
CC-FCAGP-BSF37	5,89	140,60d	2,96	140,30d
CC-FCAGP-BSF26	6,01	142,80d	3,00	142,80d
CC-FCAGP-BSF28	7,25	162,70c	3,42	162,50c
CC-FCAGP-BSF11	7,45	164,30c	3,47	164,10c
CC-FCAGP-BSF18	7,35	165,60bc	3,45	166,20bc
CC-FCAGP-BSF31	7,41	167,80abc	3,47	168,00abc
CC-FCAGP-BSF14	7,55	168,20abc	3,52	168,3abc
CC-FCAGP-BSF15	7,86	178,00abc	3,62	177,8abc
CC-FCAGP-BSF13	8,09	185,10ab	3,70	185ab
CC-FCAGP-BSF19	8,30	185,60ab	3,77	185,7ab
CC-FCAGP-BSF12	8,36	186,40ab	3,79	186,1ab
CC-FCAGP-BSF10	8,39	188,90a	3,79	188,9a

Nota: Tratamientos con letras diferentes en una misma columna, difieren estadísticamente según la prueba H de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $P < 0.05$.

Figura 11. Halos e índices de solubilización de fosfato de aislados bacterianos.

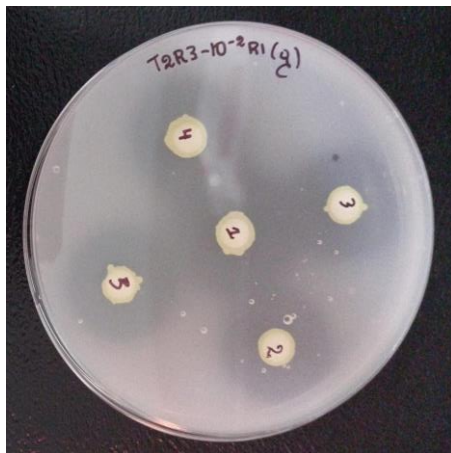


Aislado CC-FCAGP-BSF15

Halos:	8,17	8,37	7,37	7,82	7,59
--------	------	------	------	------	------

ISF:	3,72	3,79	3,46	3,61	3,53
------	------	------	------	------	------

$$\text{ISF} = ((\text{halo 1} + \text{halo 2}) + (\text{Dm discos})) / (\text{Dm discos}).$$



Aislado CC-FCAGP-BSF10

Halos:	9,99	8,08	8,13	8,10	7,63
--------	------	------	------	------	------

ISF:	4,33	3,69	3,71	3,70	3,54
------	------	------	------	------	------

$$\text{ISF} = ((\text{halo 1} + \text{halo 2}) + \text{Dm discos}) / (\text{Dm discos}).$$

Elaborado por: (Hugo Mendoza, 2022).

La idea de utilizar discos blancos de 6 mm inoculados con los aislados bacterianos con capacidad solubilizadora de fosfatos en medio Agar Pikovskaya surgió de las pruebas de susceptibilidad realizadas por **Cruz et al. (2007)** donde adicionaron 5 microlitros en cuatro discos papel filtro por placa de Petri para poder medir los halos representativos del proceso de inhibición

de antibióticos en milímetros. Destacando que esta variante nunca antes ha sido utilizada para evaluar el índice de solubilización de fosfatos.

En una investigación realizada por **Gayosso et al. (2017)** sobre rizobacterias solubilizadoras de fosfatos tricálcico en medio Pikovskaya de plantas de *Solanum rostratum* L. en zonas de Bellavista Saltillo en México observaron diferencias estadísticas significativas entre los índices de solubilización de fosfatos de los 5 aislados bacterianos con 2,25, 2,22 y 2,27 a partir de 4 días de incubación, mientras que **Susilowoti & Syekhfani (2014)** a partir de su investigación sobre bacterias obtenidas de suelos contaminados con fosfato de plomo y su capacidad para solubilizar fosfato tricálcico, obtuvieron índices de solubilización de fosfatos de los aislados bacterianos que demostraron diferencias estadísticas significativas con 2,87, 2,43 y 1,98 de *Pseudomonas* sp, *Bacillus* y *Actinomycetes* sp. A partir de 7 días de incubación en medio Agar Pikovskaya. Sin embargo, en esta investigación se obtuvieron aislados bacterianos con mayores índices de solubilización de fosfatos que los aislados obtenidos por dichos autores, pues en el presente ensayo alcanzaron índices de: 3,47, 3,52, 3,62, 3,70, 3,77 y 3,79 quienes constituyen candidatos promisorios para determinar bajo condiciones de invernadero si poseen efecto sobre la asimilación de fosfatos por vitroplantas de papa así como si pudieran promover el crecimiento vegetal.

Las prácticas agrícolas inadecuadas y el uso de algunos agroquímicos son la explicación del porque en este estudio la localidad de El Placer del cantón Quero tuvo menos BSF con baja capacidad de solubilización, mientras que las localidades Pinguilí – Mocha, Llangahua – Ambato y Santa Rita – Píllaro mostraron mayor diversidad de BSF con buenas capacidades de solubilización de fosfatos, tal como demostró **Chaves et al. (2013)** en su investigación sobre la evaluación del efecto de algunos agroquímicos sobre la microflora bacteriana donde demostró que el fungicida Azoxistrobin tuvo efectos negativos en el número de UFC.g⁻¹ suelo de bacterias Gram (-) y Gram (+). Sin embargo, **Radosevich et al. (1995)** en su investigación sobre la degradación del herbicida atrazina con una cepa bacteriana del suelo comprobó que algunos agroquímicos son utilizados por las bacterias como fuente de carbono.

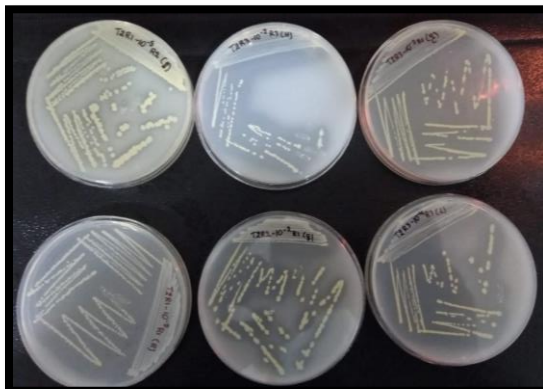
De acuerdo con **(Beltrán, 2014)** las bacterias solubilizadoras de fosfatos son parte de una gran alternativa para formar la base de biofertilizantes que pueden suplir o complementar el uso de fertilizantes sintéticos que no son totalmente aprovechados por las plantas y que pasan a formar parte de un gran problema de contaminación de acuíferos, con la ayuda de los biofertilizantes se permite tener una alternativa que brinda a la planta nutrientes necesarios y disponibles para estas, logrando que los agricultores puedan tener la opción de reducción de costo de producción y uso de fertilizantes sintéticos.

3.1.4. Conservación de los aislados bacterianos con mayor capacidad de solubilización de fosfatos de los cuatro cantones de Tungurahua.

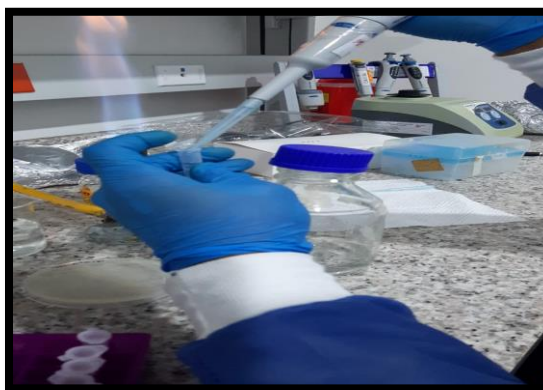
La criopreservación de los aislados bacterianos con mayor capacidad de solubilización de fosfatos se tomó en cuenta los fundamentos descritos por **(Ávila et al., 2006)** que mencionaron que el glicerol es un crioconservante penetrante que tiene la capacidad de impedir la acumulación de electrolitos y las formación de cristales de hielo que rompen la membrana celular de las bacterias durante el congelamiento. En el presente trabajo se utilizaron dos formas con glicerol al 25 % y glicerol al 20 % acompañado con caldo con caldo nutritivo BHI.

Figura 12. Diagrama de flujo de los aislados bacterianos con mayor capacidad de solubilización de fosfatos conservados en glicerol al 25 % y glicerol al 20 % acompañado con BHI a -20°C.

1. Cepas purificadas.



2. Incorporación de 1 ml glicerol al 25 % a tubos eppendorf de 1,5 ml de capacidad.



3. Incorporación de 1 ml glicerol al 20 % + BHI a tubos eppendorf de 1,5 ml de capacidad.



4. Inoculación de los aislados bacterianos en glicerol al 20 % + BHI y glicerol al 25 %.



Elaborado por: (Hugo Mendoza, 2022).

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron 40 aislados bacterianos a partir de suelos de la rizosféra de *S. tuberosum* var. Superchola cultivadas en diferentes suelos de cuatro localidades de la provincia de Tungurahua (El Placer – Quero, Pinguilí – Mocha, Llangahua – Ambato y Santa Rita – Píllaro).
2. En la caracterización cultural de los 40 aislados bacterianos con capacidad de solubilización de fosfatos, predominaron las formas de colonias circulares con un 62 %, 85% de colonias con bordes enteros y un 92 % de las colonias tuvieron textura lisa.
3. Se caracterizaron 40 aislados mediante la morfología bacteriana de los cuales predominaron las bacterias Gram (-) con un 83 % y un 50% fueron bacilos normales.
4. Los aislados bacterianos que mayor índices de solubilización de fosfatos presentaron fueron de la localidad de Pinguilí del cantón Mocha, mientras que los aislados con menores índices de solubilización de fosfatos se obtuvieron de la localidad El Placer del cantón Quero.
5. De los 40 aislados bacterianos con capacidad solubilizadoras de fosfatos el que mayor índice de solubilización tuvo fue el CC-FCAGP-BSF10 y el de menor fue el aislado CC-FCAGP-BSF30.

4.2. RECOMEDACIONES

1. Utilizar el procedimiento establecido en el presente trabajo para prospectar nuevos aislados bacterianos de otras localidades de la provincia de Tungurahua para establecer una colección bacteriana solubilizadoras de fosfatos asociadas con la rizosfera del cultivo de papa en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.
2. Realizar mediciones cuantitativas mediante espectrofotometría en medio de cultivo Pikovskaya.
3. Utilizar el medio de cultivo NBRIP para realizar estimaciones más precisa de la cantidad de fosfato solubilizado por los aislados bacterianos.
4. Identificar molecularmente los aislados bacterianos rizosféricos con capacidad de solubilización de fosfatos mediante la amplificación de los genes 16S del ARN ribosomal utilizando PCR y secuenciación.

4.3. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- Afanador, L. (2017). Biofertilizantes: conceptos, beneficios y su aplicación en Colombia. Universidad Central Facultad de Ingeniería y Ciencias Básicas. *Ingeciencia*. 2(1), pp. 65-76. http://editorial.ucentral.edu.co/ojs_uc/index.php/Ingeciencia/article/view/2353/2177
- Araujo, M., Cartagena, Y., Castillo, C., Cuesta, H., Paula, N., Racines, M., Rivadeneira, J., Velásquez, J., Panchi, N. & Andrade, J. (2021). *Manual del cultivo de papa para pequeños productores*. 3ra ed. INIAP. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/111534>
- Arce, F. (2002). *El cultivo de la patata*. 2ª. ed. Editorial: Mundi-Prensa. <https://0110o2b8b-y-https-elibro-net.uta.metaproxy.org/es/ereader/uta/35825>
- Arcos, J. & Zúñiga, D. (2016). Rizobacterias promotoras de crecimiento de plantas con capacidad para mejorar la productividad en papa. *Revista Latinoamericana de la Papa*. 20(1), pp. 18-31. <http://papaslatinas.org/index.php/rev-alap/article/view/241/246>
- Armenta, A., García, C., Camacho, R., Apodaca, M., Gerardo, L. & Nava, E. (2010). BIOFERTILIZANTES EN EL DESARROLLO AGRÍCOLA DE MÉXICO. *Revista Ra Ximhai*. 6(1), pp. 51-56. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46112896007>
- Ávila, L., Madero, J., López, C., León, M., Acosta, L., Gómez, C., Delgado, L., Gómez, C., Lozano, J. & Reguero, M. (2006). FUNDAMENTOS DE CRIOPRESERVACIÓN. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*. 57(4), pp. 291-300. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcog/v57n4/v57n4a08.pdf>

- Azcón, J. & Talón, M. (2013). *FUNDAMENTOS DE LA FISIOLOGÍA VEGETAL*. 2ª. ed. Editorial: McGRAW-HILL - INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S. L. ISBN: 978-84-481-9293-8
- Basantes, T., Aragón, J., Albuja, L. & Vásquez, L. (2020). Diagnósticos de los costos, rendimientos de producción y comercialización de papa (*Solanum tuberosum* L.) la zona 1 del Ecuador, año 2019. *Revista e-Agronegocios*. 6(2). <https://doi.org/10.18845/ea.v6i2.5103>
- Barcos, M.S., Maldonado, M., Vera, J.A. & Peña, J.J. (2019). CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS RIZOSFÉRICAS DE SUELO CIRCUNDANTE A UNA PLANTA RECICLADORA DE PLOMO (Pb). *Rev. Int. Contam. Ambie.* 35(2), pp. 349 – 359. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v35n2/0188-4999-rica-35-02-349.pdf>
- Beltrán, M.E. (2014). BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO CON POTENCIAL BIOFERTILIZANTE EN SUELOS CULTIVADOS CON PAPA (*Solanum tuberosum*). *Agron.* 22(2), pp. 7 – 20. [http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia22\(2\)_2.pdf](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia22(2)_2.pdf)
- Beltrán, M.E. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 15(1), pp. 101 – 113. <http://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/401/317>
- Calvo, P., Reymundo, M. & Zúñiga, D. (2008). ESTUDIO DE LAS POBLACIONES MICROBIANAS DE LA RIZÓSFERA DEL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum*) EN ZONAS ALTOANDINAS. *Ecología Aplicada*. 7(1,2), pp. 142 – 148. <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v7n1-2/a17v7n1-2.pdf>

- Collahuazo, Y. & Araujo, S. (2019). Producción de biofertilizantes a partir de microalgas. *Revista del Centro de Estudio y Desarrollo de la Amazonia*. 10(22), pp. 75 – 80. <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/cedamaz/article/view/648/908>
- Castillo, I. Y. (2016). Las bacterias, estudio y cambios a lo largo de la historia. *Revista digital universitaria*. 17(5). <https://www.revista.unam.mx/vol.17/num5/art38/art38.pdf>
- Camelo, M., Vera, S. & Bonilla, R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 12(2), pp. 159-166. <http://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/227/233>
- Corrales, C; Arévalo, Z.Y & Moreno, V. (2014). Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. Artículo de revisión. *NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*. 12(21). <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v12n21/v12n21a06.pdf>
- Cuadrado, B.S., Vélez, M.T. & Infante, C. (2015). *Bioteología de la teoría a la práctica*. (1ª ed.). Cartagena: Universidad de Cartagena. ISBN: 978-958-8736-76-1. Recuperado de: <https://1library.co/document/yd70jjgy-bioteologia-de-la-teoria-a-la-practica.html>
- Cruz, M., García, Y., Sánchez, C. & Alvarado, Y. (2007). Identificación y control de *Bacillus* sp., contaminante del establecimiento in vitro de *Guadua angustifolia* Kunth / Identification and control of *Bacillus* sp., contaminants of in vitro establishment of *Guadua angustifolia* Kunth. *Bioteología Vegetal*. 7(1), pp. 9 -13. https://www.researchgate.net/publication/277132576_Identificacion_y_control_de_Bacillus_sp_contaminante_del_establecimiento_in_vitro_de_Guadua_angustifolia_Kunth_Identification_and_control_of_Bacillus_sp_contaminants

- Chaves, G., Ortíz, M. & Ortíz, L. (2013). Efecto de la aplicación de agroquímicos en un cultivo de arroz sobre los microorganismos del suelo. *Acta Agronómica*. 62(1), pp. 66-72. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169929770011>
- Fernández, M. T., & Rodríguez, H. (2005). El papel de la solubilización de fósforo en los biofertilizantes microbianos. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 39(3), pp. 27-34. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120688005>
- Flores, H., Flores, H. & Ojeda, W. (2014). Predicción fenológica del cultivo de papa mediante tiempo térmico. *Revista fitotecnia mexicana*. 37(2), pp. 149-157. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v37n2/v37n2a6.pdf>
- Gayosso, O., Rodríguez, S., López, A. & Luevanos, M. (2017). Aislamiento e identificación de bacterias solubilizadoras de fosfatos y su potencial para disolver fosfato tricálcico. *Revista de Investigación y Desarrollo*. 3(7), pp. 33-37. https://www.ecorfan.org/spain/researchjournals/Investigacion_y_Desarrollo/vol3num7/Rvista_de_Investigaci%c3%b3n_y_Desarrollo_V3_N7_5.pdf
- González, H., Fuentes, N. (2017). Mecanismo de acción de cinco microorganismos de promotores de crecimiento vegetal. *Revista de Ciencias Agrícolas*. 34(1): pp. 17-31. <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.173401.61>.
- Grageda, O., Díaz, A., Peña, J. & Vera, J. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 3(6), pp. 1261-1274. <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v3n6/v3n6a15.pdf>
- Hernández, L., Munive, A., Sandoval, E., Martínez, D. & Villegas, C. (2013). Efecto de las prácticas agrícolas sobre las poblaciones bacterianas del suelo en sistemas de cultivo en Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 4(3), pp. 353-365. Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v4n3/v4n3a2.pdf>

- Hernández, L., Salgado, S., Gómez, J., Córdova, S., Ramírez, A., Aranda, E. & Ortiz, C. (2020). Diagnóstico sobre las bacterias rizosféricas asociadas al cultivo de caña de azúcar (*Saccharum spp.*). *Agroproductividad*. 13(4), pp. 33-39. <https://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1592/1301>
- HiMedia Laboratories (2015). *Pikovskayas Agar M520*. Disponible en: https://us.vwr.com/assetsvc/asset/en_US/id/8042423/contents/himedia-pikovskayas-agar-m520
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (2014). *Condiciones Agroecológicas cultivo de papa Solanum tuberosum L.* <http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mraiz/rpapa>
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (2017). *EL CULTIVO DE PAPA EN ECUADOR*. (1ª ed.). <https://cipotato.org/wp-content/uploads/Documentacion%20PDF/Pumisacho%20y%20Sherwood%20Cultivo%20de%20Papa%20en%20Ecuador.pdf>
- Inostroza, J. (2009). *Manual de papa para la Araucanía: Manejo y Plantación*. INIA. <https://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/20.500.13082/32024/Manual%20de%20papa%20para%20la%20Araucania%20Manejo%20y%20plantanci%20c3%b3n%2011-05-2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Jaén, B. (2011). *GUÍA PARA LA PREPARACIÓN Y USO DEL BIOL*. (1ª ed.). <http://saludpublica.bvsp.org.bo/cc/bo40.1/documentos/676.pdf>
- Jorquera, A., Crowley, D., Marschner, P., Greiner, R., Fernández, M., Romero, D., Menezes, D. & De La Luz, M. (2010). Identification of b-propeller phytase-encoding genes in culturable

Paenibacillus and Bacillus spp. from the rhizosphere of pasture plants on volcanic soils. *FEMS Microbiology Ecology*. 75(1), pp. 163–172. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00995.x>

Khan, F.M., Inamul, H., Tariq, S., Muhammad, F., Ochia, C. & Tauseef, A. (2018). Isolation, Characterisation and Identification of Plant Growth Promoting Rhizobacteria from Cauliflower (*Brassica oleracea*). *HHS Public Access*. 6(1), pp. 55-60. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6126378/pdf/nihms-985850.pdf>

Lara, S., Esquivel, L. & Negrete, J. (2011). BACTERIAS NATIVAS SOLUBILIZADORES DE FOSFATOS PARA INCREMENTAR LOS CULTIVOS EN EL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA – COLOMBIA. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 9(2), pp. 114-120. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612011000200013#:~:text=As%20bact%C3%A9rias%20isoladas%20foram%3A%20Burkoldelia%20cepacia%2C%20Enterobacter%20cloacae%2C,pequeno%20teste%20em%20sementes%20de%20rabanete%20%28Rhapanus%20sativus%29.

Linares, Y. & Gutierrez, A. (2001). El Mercado mundial de la papa. *Aldea Mundo*. 5(10), pp. 59-69. <https://www.redalyc.org/pdf/543/54301008.pdf>

Marquez, Y., Salomón, J. & Acosta, R. (2020). Análisis de la interacción genotipo ambiente en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas*. 41(1). <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v41n1/1819-4087-ctr-41-01-e10.pdf>

Marquina, E., Ramirez, Y. & Castro, Y. (2018). EFECTO DE LAS BACTERIAS RIZOSFÉRICAS EN LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DEL PIMIENTÓN *Capsicum annuum* L. VAR. CACIQUE GIGANTE. *Bioagro*. 30(1), pp. 3-16. <http://ve.scielo.org/pdf/ba/v30n1/art01.pdf>

- Mengel, K. & Kirkby, E. (2000). *Principios de nutrición vegetal*. 4ta ed. Instituto Internacional de la Potasa Basilea, Suiza.
https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/66737/mod_resource/content/2/PRINCIPIOS%20DE%20NUTRICI%C3%93N%20VEGETAL.pdf
- Molina, D., Morales, Y., Bustillos, M., Rodríguez, O., Saenz, Y., Muñoz, J., & Castañeda, M. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias*, 17 (2), pp. 24–34. https://www.researchgate.net/publication/293086504_Mecanismos_de_fitoestimulacion_por_rizobacterias_aislamientos_en_America_y_potencial_biotecnologico/download
- Molina, J., Mairena, B. & Aguilar, L. (2004). *GUÍA MIP EN EL CULTIVO DE LA PAPA*. 1ª ed. INTA. <https://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENH10M722.pdf>
- Mollinedo, M. & González, C. (2014). Bacterias Gram negativas. *Revista de Actualización Clínica Investiga*. Vol. 49. pp. 3-5. http://www.revistasbolivianas.ciencia.bo/pdf/raci/v49/v49_a05.pdf
- Montaldo, A. (1984). *Cultivo y mejoramiento de la papa*. Edición IICA. https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=WrlXb523rA0C&oi=fnd&pg=PA11&dq=cultivo+de+papa&ots=2bcW76k2Dw&sig=kLkf2hjnD6bBY_Xhm2kaO8QrSgs#v=onepage&q=cultivo%20de%20papa&f=false
- Moreno, L. & Galvis, F. (2013). Potencial biofertilizante de bacterias diazótroficas aisladas de muestras de suelo rizosféricas. *Pastos y Forrajes*. 36(1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942013000100003
- Morocho, M. & Leiva, M. (2019). Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. *Centro Agrícola*. 46(2), pp. 93 – 103. <http://scielo.sld.cu/pdf/cag/v46n2/0253-5785-cag-46-02-93.pdf>

- Noda, Y. (2009). Las micorrizas: una alternativa de fertilización ecológica en los pastos. *Pastos y Forrajes*. 32(2). http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03942009000200001&script=sci_arttext&tlng=pt
- Oliver, J. (2017). RENDIMIENTO DE DOS VARIEDADES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) CON LA APLICACIÓN DE TIERRA NEGRA Y FERTILIZANTES INORGÁNICOS. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales, La Paz*. 4(2), pp. 56-62. http://www.scielo.org.bo/pdf/riiarn/v4n2/v4n2_a08.pdf
- Orozco, A., Valverde, M., Martínez, R., Chávez, C. & Benavidez, R. (2016). Propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo con biofertilización cultivado con manzano. *Terra Latinoamericana*. 34(4), pp. 441-456. <http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v34n4/2395-8030-tl-34-04-00441.pdf>
- Paucar, B., Díaz, N. & Alvarado, S. (2011). Efecto del manejo de suelo sobre las poblaciones microbianas en suelos de la Sierra de Ecuador. Quito, EC: INIAP. Disponible en: <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/2504>
- Radosevich, M., Traina, S., Hao, Y. & Tuovinen, O. (1995). Degradation and mineralization of atrazine by a soil bacterial isolate. *Appl Environ Microbiol*. 61(1), pp. 297-302. Doi: 10.1128/aem.61.1.297-302.1995.
- Ramos, D. & Terry, E. (2014). Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. *Cultivos Tropicales*. 35(4), pp. 52-59. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v35n4/ctr07414.pdf>
- Restrepo, M., Marulanda, S., De la Fe, Y., Díaz, A., Lucía, V. & Hernández, A. (2014). Bacterias solubilizadoras de fosfatos y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 46(1), pp. 63-76. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181238817006>

- Rodríguez, N., Cano, P., Favela, E., Figueroa, U., Álvarez, P., Márquez, C. & Moreno, A. (2007). VERMICOMPOSTA COMO ALTERNATIVA ORGÁNICA EN LA PRODUCCIÓN DE TOMATE EN INVERNADERO. 13(2), pp. 185-192. <https://www.redalyc.org/pdf/609/60913280011.pdf>
- Rodríguez, E., Gamboa, M., Hernández, F. & García, D. (2005). *Bacteriología General – Principios y prácticas de laboratorio*. Editorial de la Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria. (1^a ed.). https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=vwB0fgirgN0C&oi=fnd&pg=PA103&dq=bacteriologia&ots=x_tgy1vbri&sig=eX42U90S44o-7is-Ok9T6vJ6p5k#v=onepage&q=bacteriologia&f=false
- Rodríguez, P., Arenas, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*. 16(2), pp. 166 – 167. <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
- Ruiz, M. (2006). Diferencias morfológicas básicas entre bacterias. Las formas más frecuentemente encontradas y sus asociaciones. *LadyofHats*. Disponible en: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bacterial_morphology_diagram.svg
- Salazar, M., García, Y., García, P., García, R., Candil, A. & García, R. (2019). Manuales Departamentales. Bacteriología Unidad Temática 1. Departamento de Microbiología y Parasitología Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://liceaga.facmed.unam.mx/deptos/myp/wp-content/uploads/2019/08/Bacteriologi%CC%81a-Manual-2019-2020.pdf>
- Salazar, M., Zambrano, J. & Valecillos, H. (2008). Evaluación del rendimiento y características de calidad de trece clones avanzados de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Agricultura Andina*. Vol. 14, pp. 101-117. <http://bdigital.ula.ve/storage/pdf/agri/n14/articulo7.pdf>

- Serna, L., Arias, C. & Valencia, L. (2011). BIOFERTILIZACIÓN, UNA ALTERNATIVA AL USO DE FERTILIZANTES QUÍMICOS EN CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum*). *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 20(24), 1-14. <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/18/18>
- Sifuentes, E., Ojeda, W., Mendoza, C., Macías, J., Ruelas, J. & Inzunza, M. (2014). Nutrición del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) considerando variabilidad clima en el “Valle del Fuerte” Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 4(4), pp. 585-597. <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v4n4/v4n4a8.pdf>
- Susilowoti, L., Syekhfani, S. (2014). Characterization of phosphate solubilizing bacteria isolated from Pb contaminated soils and their potential for dissolving tricalcium phosphate. *JOURNAL OF DEGRADED AND MINING LANDS MANAGEMENT*. 1(2), pp. 57-62. <https://media.neliti.com/media/publications/70984-EN-characterization-of-phosphate-solubilizi.pdf>
- Paredes, M. & Espinosa, D. (2010). Ácidos orgánicos producidos por rizobacterias que solubilizan fosfatos: una revisión crítica. *Terra Latinoamericana*. 28(1), pp. 61-70. <http://scielo.org.mx/pdf/tl/v28n1/v28n1a7.pdf>
- Paredes, C., Bustos, A., Dbiec, M., Calisaya, J. Alvarado, J. & Peñarrieta, J. (2013). DETERMINACIÓN DE DIFERENTES TIPOS DE ALMIDÓN EN SOLANUM TUBEROSUM, PAPA PROVENIENTE DEL ALTIPLANO DE LA PAZ. *Revista Boliviana de Química*. 30(1), pp. 1-4. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=426339679001>
- Vargas, T. & Kuno, A. (2014). Morfología Bacteriana. *Revista de Actualización Clínica*. 49(2), pp. 2594 – 2598. http://metabase.uaem.mx/bitstream/handle/123456789/1466/280_2.pdf?sequence=1

- Velasco, A., Castellanos, O., Acevedo, G., Clarene, R. & Rodriguez, E. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *TERRA LATINOAMERICANA*. 8(2). <http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v38n2/2395-8030-tl-38-02-333.pdf>
- Vélez, P., Meneses, L. & Zúñiga, D. (2008). ESTUDIO DE LAS POBLACIONES MICROBIANAS DE LA RIZÓSFERA DEL CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum*) EN ZONAS ALTOANDINAS. *Ecología Aplicada*. 7(1,2). Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v7n1-2/a17v7n1-2.pdf>
- Zúñiga, Z., Morales, C. & Estrada, M. (2017). Cultivo de la papa y sus condiciones climáticas. *Gestión Ingenio y Sociedad*. 2(2), pp 140-152. <http://gis.unicafam.edu.co/index.php/gis/article/view/60>

4.4. ANEXOS

Figura 13. Muestreo de suelo de la localidad de Llangahua del cantón Ambato.



Figura 14. Establecimiento de los tratamientos con suelos de 4 localidades de la Provincia de Tungurahua (El Placer – Cantón Quero, Pingulí – cantón Mocha, Llangahua – Ambato y Santa Rita – cantón Píllaro).



Figura 15. Etiquetado de los tratamientos de las cuatro localidades de la provincia de Tungurahua (El Placer – cantón Quero, Pinguilí – cantón Mocha, Llangahua – cantón Ambato y Santa Rita – cantón Píllaro).

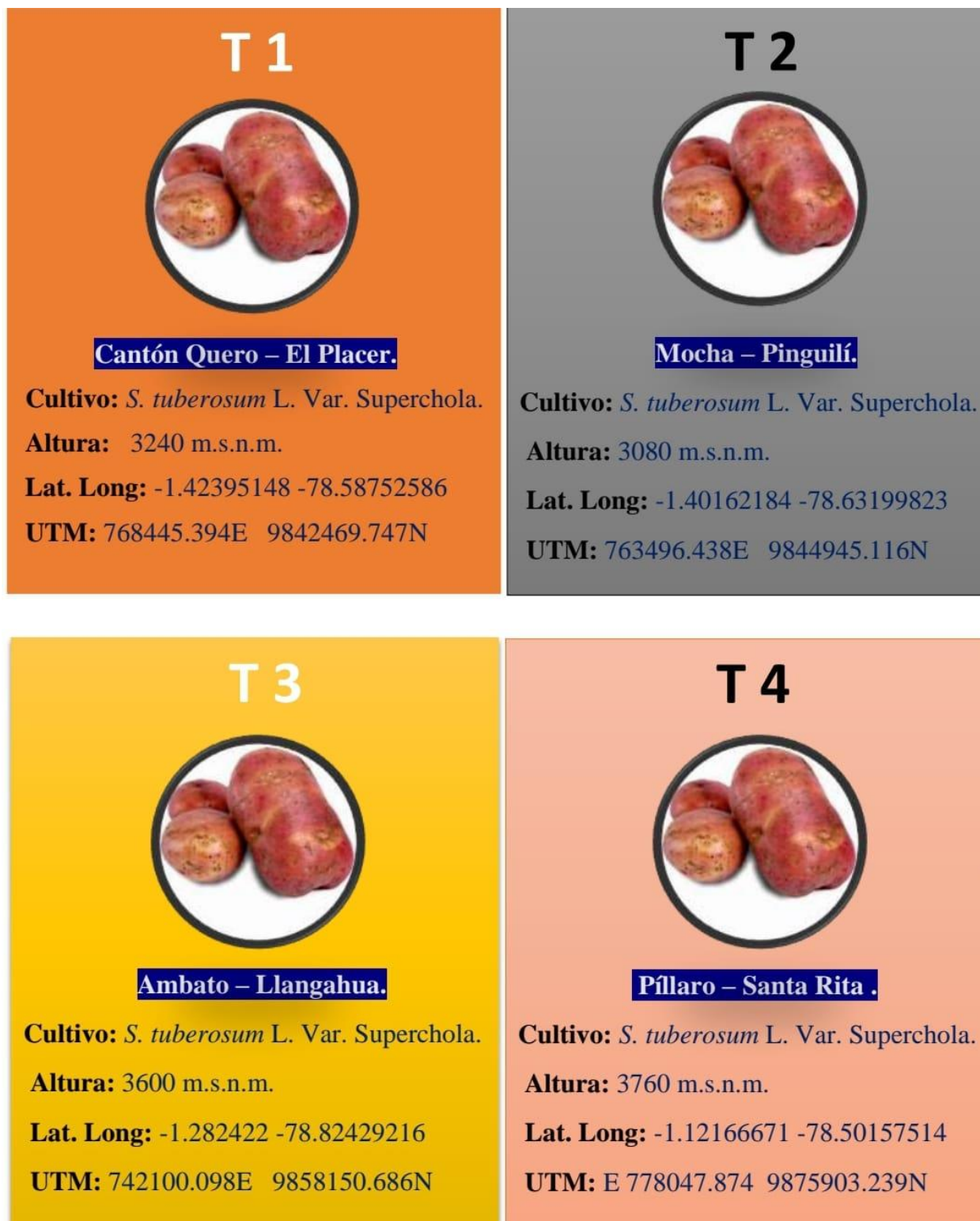


Figura 16. Carta de colores PANTONE COATED.

Colores Pantone

PANTONE 100	PANTONE 101	PANTONE 109	PANTONE 115	PANTONE 118	PANTONE 119	PANTONE 120	PANTONE 1205	PANTONE 121	PANTONE 123	PANTONE 134	PANTONE 136
PANTONE 137	PANTONE 139	PANTONE 141	PANTONE 148	PANTONE 151	PANTONE 154	PANTONE 155	PANTONE 157	PANTONE 162	PANTONE 1625	PANTONE 163	PANTONE 165
PANTONE 168	PANTONE 169	PANTONE 170	PANTONE 172	PANTONE 174	PANTONE 176	PANTONE 177	PANTONE 178	PANTONE 1797	PANTONE 180	PANTONE 182	PANTONE 183
PANTONE 184	PANTONE 185	PANTONE 191	PANTONE 192	PANTONE 1925	PANTONE 195	PANTONE 199	PANTONE 200	PANTONE 202	PANTONE 206	PANTONE 207	PANTONE 208
PANTONE 211	PANTONE 212	PANTONE 213	PANTONE 214	PANTONE 217	PANTONE 220	PANTONE 221	PANTONE 228	PANTONE 231	PANTONE 2375	PANTONE 244	PANTONE 246
PANTONE 250	PANTONE 2562	PANTONE 259	PANTONE 2607	PANTONE 263	PANTONE 264	PANTONE 265	PANTONE 266	PANTONE 2665	PANTONE 2706	PANTONE 2707	PANTONE 2716
PANTONE 2717	PANTONE 2718	PANTONE 2726	PANTONE 2727	PANTONE 277	PANTONE 279	PANTONE 283	PANTONE 284	PANTONE 285	PANTONE 286	PANTONE 290	PANTONE 292
PANTONE 293	PANTONE 294	PANTONE 297	PANTONE 298	PANTONE 2985	PANTONE 299	PANTONE 300	PANTONE 301	PANTONE 304	PANTONE 306	PANTONE 310	PANTONE 3105
PANTONE 312	PANTONE 3125	PANTONE 313	PANTONE 3145	PANTONE 3165	PANTONE 317	PANTONE 319	PANTONE 320	PANTONE 324	PANTONE 327	PANTONE 3285	PANTONE 3292
PANTONE 331	PANTONE 333	PANTONE 335	PANTONE 337	PANTONE 339	PANTONE 340	PANTONE 3405	PANTONE 3415	PANTONE 346	PANTONE 347	PANTONE 348	PANTONE 351

PANTONE 353	PANTONE 354	PANTONE 358	PANTONE 360	PANTONE 361	PANTONE 365	PANTONE 367	PANTONE 368	PANTONE 370	PANTONE 374	PANTONE 375	PANTONE 376
PANTONE 382	PANTONE 386	PANTONE 388	PANTONE 389	PANTONE 400	PANTONE 401	PANTONE 402	PANTONE 406	PANTONE 408	PANTONE 409	PANTONE 420	PANTONE 421
PANTONE 422	PANTONE 424	PANTONE 427	PANTONE 428	PANTONE 429	PANTONE 430	PANTONE 431	PANTONE 432	PANTONE 434	PANTONE 435	PANTONE 436	PANTONE 437
PANTONE 440	PANTONE 4505	PANTONE 451	PANTONE 452	PANTONE 4525	PANTONE 4535	PANTONE 454	PANTONE 458	PANTONE 459	PANTONE 464	PANTONE 465	PANTONE 4655
PANTONE 466	PANTONE 469	PANTONE 469	PANTONE 470	PANTONE 471	PANTONE 472	PANTONE 473	PANTONE 475	PANTONE 479	PANTONE 480	PANTONE 481	PANTONE 482
PANTONE 484	PANTONE 485	PANTONE 486	PANTONE 488	PANTONE 489	PANTONE 490	PANTONE 492	PANTONE 493	PANTONE 500	PANTONE 521	PANTONE 523	PANTONE 524
PANTONE 527	PANTONE 528	PANTONE 535	PANTONE 536	PANTONE 537	PANTONE 541	PANTONE 542	PANTONE 5425	PANTONE 5435	PANTONE 544	PANTONE 5445	PANTONE 548
PANTONE 5483	PANTONE 549	PANTONE 5493	PANTONE 5497	PANTONE 550	PANTONE 5503	PANTONE 5507	PANTONE 552	PANTONE 5527	PANTONE 562	PANTONE 563	PANTONE 5767
PANTONE 583	PANTONE 617	PANTONE 630	PANTONE 631	PANTONE 632	PANTONE 649	PANTONE 650	PANTONE 652	PANTONE 675	PANTONE 679	PANTONE 680	PANTONE 692
PANTONE 693	PANTONE 694	PANTONE 698	PANTONE 701	PANTONE 702	PANTONE 801	PANTONE 802	PANTONE 803	PANTONE 804	PANTONE 805	PANTONE 808	PANTONE BLACK
PANTONE BLACK 4	PANTONE BLACK 5	PANTONE BLUE 372	PANTONE COOL GRAY 1	PANTONE COOL GRAY 10	PANTONE COOL GRAY 11	PANTONE COOL GRAY 2	PANTONE COOL GRAY 3	PANTONE COOL GRAY 4	PANTONE COOL GRAY 5	PANTONE COOL GRAY 6	PANTONE COOL GRAY 7
PANTONE COOL GRAY 8	PANTONE COOL GRAY 9	PANTONE GREEN	PANTONE ORANGE 021	PANTONE PROCESS BLACK	PANTONE PROCESS BLUE	PANTONE PROCESS CYAN	PANTONE PRO MAGENTA	PANTONE PROCESS	PANTONE PURPLE 6	PANTONE RED 033	PANTONE REFLEX BLUE
PANTONE RHODAMINE RED	PANTONE RUBINE RED	PANTONE WARM GREY 1	PANTONE WARM GREY 10	PANTONE WARM GREY 11	PANTONE WARM GREY 2	PANTONE WARM GREY 3	PANTONE WARM GREY 4	PANTONE WARM GREY 5	PANTONE WARM GREY 6	PANTONE WARM GREY 7	PANTONE WARM GREY 8
PANTONE WARM GREY 9	PANTONE WARM RED	PANTONE WARM RED 2X	PANTONE YELLOW								

Tabla 15. Halos de solubilización de aislados de BSF.

LOCALIDAD EL PLACER - CANTÓN QUERO						
Nº	Cepas de BSP	HAL 1	HAL 2	HAL 3	HAL 4	HAL 5
1	CC-FCAGP-BSF1	2,06	1,79	1,97	1,94	1,94
2	CC-FCAGP-BSF2	2,11	1,42	1,88	2,23	1,73
3	CC-FCAGP-BSF3	2,95	1,74	1,81	2,70	1,54
4	CC-FCAGP-BSF4	3,03	3,13	3,18	3,11	3,11
5	CC-FCAGP-BSF5	1,23	1,14	1,50	1,51	1,38
6	CC-FCAGP-BSF6	4,70	2,42	2,06	2,19	2,08
7	CC-FCAGP-BSF7	2,01	2,14	2,23	2,24	2,17
LOCALIDAD PINGUILÍ - CANTÓN MOCHA.						
Nº	Cepas de BSP	HAL 1	HAL 2	HAL 3	HAL 4	HAL 5
1	CC-FCAGP-BSF8	4,36	3,83	3,89	3,50	3,17
2	CC-FCAGP-BSF9	4,61	4,16	3,93	3,41	4,09
3	CC-FCAGP-BSF10	9,99	8,08	8,13	8,10	7,63
4	CC-FCAGP-BSF11	7,47	7,50	7,54	7,37	7,35
5	CC-FCAGP-BSF12	9,62	8,47	7,76	7,87	8,06
6	CC-FCAGP-BSF13	8,04	7,98	8,04	8,17	8,21
7	CC-FCAGP-BSF14	7,58	7,65	7,66	7,40	7,45
8	CC-FCAGP-BSF15	8,17	8,37	7,37	7,82	7,59
9	CC-FCAGP-BSF16	5,03	4,82	4,27	4,70	5,12
LOCALIDAD LLANGAHUA - CANTÓN AMBATO						
Nº	CEPAS	HAL 1	HAL2	HAL 3	HAL 4	HAL 5
1	CC-FCAGP-BSF17	4,15	4,03	4,05	4,00	4,07
2	CC-FCAGP-BSF18	6,19	7,31	7,24	7,86	8,16

3	CC-FCAGP-BSF19	8,51	8,47	7,92	7,96	8,63
4	CC-FCAGP-BSF20	6,27	5,54	5,61	5,67	4,91
5	CC-FCAGP-BSF21	5,61	2,94	3,47	5,56	5,01
6	CC-FCAGP-BSF22	2,84	2,34	2,15	2,19	2,14
7	CC-FCAGP-BSF23	5,25	5,27	5,14	5,15	5,23
8	CC-FCAGP-BSF24	4,31	4,30	3,70	3,68	3,31
9	CC-FCAGP-BSF25	4,91	5,13	5,04	4,98	5,20
10	CC-FCAGP-BSF26	6,47	5,96	5,86	5,83	5,91

LOCALIDAD SANTA RITA - CANTÓN PÍLLARO

Nº	CEPAS	HAL 1	HAL 2	HAL 3	HAL 4	HAL 5
1	CC-FCAGP-BSF27	7,12	4,66	5,74	5,51	4,61
2	CC-FCAGP-BSF28	8,07	6,76	6,77	7,48	7,19
3	CC-FCAGP-BSF29	1,05	1,01	1,06	1,17	1,24
4	CC-FCAGP-BSF30	5,41	5,02	4,53	4,86	5,14
5	CC-FCAGP-BSF31	3,58	4,24	3,53	3,84	3,64
6	CC-FCAGP-BSF32	2,28	1,95	2,06	2,53	2,58
7	CC-FCAGP-BSF33	6,64	6,00	5,47	5,13	5,43
8	CC-FCAGP-BSF34	1,31	1,33	1,81	1,67	1,49
9	CC-FCAGP-BSF35	1,83	2,65	3,01	2,19	2,30
10	CC-FCAGP-BSF36	8,91	8,06	6,77	6,89	6,43

TRATAMIENTO TESTIGO

Nº	CEPAS	HAL 1	HAL 2	HAL 3	HAL 4	HAL 5
1	CC-FCAGP-BSF37	6,23	5,63	5,89	5,66	6,03
2	CC-FCAGP-BSF38	4,90	4,95	4,64	4,59	4,79
3	CC-FCAGP-BSF39	5,30	5,26	5,25	5,53	5,65
4	CC-FCAGP-BSF40	3,59	3,28	3,29	3,19	3,25