



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

**EFEECTO DE LOS PLAGUICIDAS EN LA MICROBIOTA Y EN LA  
RESPIRACIÓN DEL SUELO EN LA COMUNIDAD UTUÑAG DEL  
CANTÓN PENIPE PROVINCIA DE CHIMBORAZO**

**Trabajo de Integración Curricular**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

**AUTORA:** ANGELA MISHHELL LARA CORONEL

**DIRECTORA:** ING. ANDREA PATRICIA GUAPI AUQUILLA, Mgs.

Riobamba – Ecuador

2024

© 2024, Angela Mishell Lara Coronel

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Angela Mishell Lara Coronel, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 04 de junio de 2024

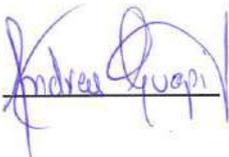


**Angela Mishell Lara Coronel**

**060454342-1**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación, **EFFECTO DE LOS PLAGUICIDAS EN LA MICROBIOTA Y EN LA RESPIRACIÓN DEL SUELO EN LA COMUNIDAD UTUÑAG DEL CANTÓN PENIPE PROVINCIA DE CHIMBORAZO**, realizado por la señorita: **ANGELA MISHELL LARA CORONEL**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Rosa del Pilar Castro Gómez, PhD. <b>PRESIDENTA DEL TRIBUNAL</b>		2024-06-04
Ing. Andrea Patricia Guapi Auquilla, Mgs. <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2024-06-04
Ing. Alex Vinicio Gavilanes Montoya, PhD. <b>ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2024-06-04

## **DEDICATORIA**

A Dios, la fuente suprema de sabiduría que me ha guiado en cada paso que doy durante todo el trayecto de mi vida y el transcurso de mi carrera, para ser una mejor persona. El presente trabajo está dedicado con todo mi amor y cariño a mi familia y en especial a mis padres Ángel y Marlene, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. A mis hermanos Fabián y Génesis por apoyarme incondicionalmente, quienes con sus palabras de aliento no me dejaban decaer para que siguiera adelante y siempre sea perseverante y cumpla con mis ideales. A mis primos Franklin Lara y David Lara por ser mi fuente de admiración y perseverancia para luchar por mis sueños gracias por apoyarme y darme aliento en la elaboración de mi tesis. A mis sobrinas Aitana, Lyliana y Lia que son mi fuerza para nunca haberme rendido y a mi querido enamorado Jean Pierre Flores por todo el cariño y apoyo brindado durante esta experiencia. A mis tías María Tapia y Victoria Sanmartín por ser como mis madres y a mi abuelita María Delfina Zumba que sé que está muy orgullosa de mi cuidándome desde el cielo. Estoy muy agradecida con todos por haberme dado la fuerza que necesitaba, por ser el motor que promovió que esta meta se cumpla, por sus consejos, gracias por ser el pilar fundamental para que este sueño se cumpla.

**Angela Mishell**

## **AGRADECIMIENTO**

Al cumplir una de las etapas más anheladas de mi vida académica expreso mis sinceros agradecimientos en primer lugar a Dios, ya que él me ha iluminado el camino de la sabiduría para alcanzar, con esfuerzo y dedicación este título, a la vez también agradecer a la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo y en su nombre a la Facultad de Recursos Naturales y Escuela de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables por abrirme sus puertas para estudiar en tan prestigiosa institución.

A mis amados padres por estar siempre a mi lado y apoyarme en el trabajo de campo y ayudarme a solventar todos los gastos necesarios durante todo el trabajo de Investigación les estaré agradecida toda mi vida.

A la directora de este trabajo de titulación Ing. Andrea Guapi Auquilla, Mgs. quien me guio, apoyó y me brindo orientación y asesoría, conduciéndome de esta manera hasta el logro de mí meta con sus conocimientos, a mi asesor Ing. Alex Vinicio Montoya, PhD. por su orientación y apoyo desinteresado durante la realización del proyecto de Investigación.

A la Ing. Elizabeth Pachacama por ser brindarme su tiempo y conocimiento para orientarme en el trabajo de Investigación en el laboratorio de suelos, al igual que el Ing. Álvaro Rivera que me ayudo en el laboratorio de Fitopatología y a la Ing. Ana Carola Flores por su paciencia y ayuda desinteresada en la parte estadística de mi trabajo de investigación.

**Angela Mishell**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ilustraciones .....	xii
ÍNDICE DE ANEXO .....	xiii
RESUMEN .....	xiv
ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN .....	1

### CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	3
1.1 Planteamiento del Problema .....	3
1.2 Objetivos.....	3
1.2.1. <i>General</i> .....	3
1.2.2. <i>Específicos</i> .....	3
1.3. Justificación.....	4

### CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO .....	6
2.3. Utuñag-Penipe.....	6
2.3.1. <i>Características del lugar del suelo</i> .....	6
2.3.2. <i>Relieve</i> .....	6
2.3.3. <i>Precipitación (Isoyetas)</i> .....	7
2.3.4. <i>Temperatura (Isotermas)</i> .....	7
2.3.5. <i>Pisos climáticos</i> .....	8
2.3.6. <i>Humedad</i> .....	8
2.3.7. <i>Tipos de cultivos</i> .....	8
2.4. Importancia agrícola de la comunidad Utuñag .....	8
2.5. Suelos agrícolas de la comunidad Utuñag .....	9
2.6. Clasificación, importancia y diversidad de microorganismos en el suelo .....	9
2.6.1. <i>Tipos de Microorganismos</i> .....	10
2.4.1.1. <i>Bacterias</i> .....	10
2.4.1.2. <i>Protozoarios</i> .....	10
2.4.1.3. <i>Nemátodos</i> .....	11

2.4.1.4.	<i>Actinomicetos del suelo</i> .....	11
2.4.1.5.	<i>Hongos del suelo</i> .....	11
2.4.1.6.	<i>Microorganismos fijadores de nitrógeno</i> .....	11
2.4.1.7.	<i>Microorganismos simbióticos fijadores de nitrógenos</i> .....	12
2.4.1.8.	<i>Microorganismos que transforman el fosforo</i> .....	12
2.4.1.9.	<i>Microorganismos que transforman azufre</i> .....	12
2.4.1.10.	<i>Microorganismos que movilizan el potasio</i> .....	12
2.4.1.11.	<i>Micorrizas</i> .....	13
<b>2.5.</b>	<b>Unidades formadoras de colonias</b> .....	13
<b>2.6.</b>	<b>Importancia del microbiota en los suelos agrícolas</b> .....	15
<b>2.7.</b>	<b>Métodos de caracterización e identificación de microorganismos (bacterias y hongos)</b> .....	15
2.7.1.	<i>Caracterización cultural</i> .....	16
2.7.2.	<i>Caracterización morfológica (microscopia luz)</i> .....	18
2.7.3.	<i>Caracterización microscópica (cinta adhesiva)</i> .....	21
2.7.3.1.	<i>Placa realizada con cinta adhesiva</i> .....	21
2.8.	Respiración del suelo.....	23
2.8.1.	<i>Relación respiración- función del suelo</i> .....	23
2.8.2.	<i>Proceso de respiración del suelo</i> .....	23
2.9.	Titulación.....	24
<b>2.10.</b>	<b>Métodos de respiración del suelo</b> .....	25
<b>2.11.</b>	<b>Métodos de la respiración basal según la metodología de Isermeyer</b> .....	25
<b>2.12.</b>	<b>Método respiración por sustrato (sir)</b> .....	25
<b>2.13.</b>	<b>Plaguicidas</b> .....	26
2.13.1.	<i>Uso de los plaguicidas en el mundo</i> .....	26
2.13.2.	<i>Efecto en la salud de los plaguicidas</i> .....	27
<b>2.14.</b>	<b>Impacto ambiental de los plaguicidas en el suelo</b> .....	28
<b>2.15.</b>	<b>Efecto de los plaguicidas en la respiración del suelo</b> .....	28
<b>2.16.</b>	<b>Tipos de plaguicidas utilizados en el cultivo de papa</b> .....	30
<b>2.17.</b>	<b>Plagas difíciles de controlar en cultivo de papa en zonas altas</b> .....	32
2.17.1.	<i>“Gusano blanco” Premnotrypes vorax</i> .....	32
2.17.1.1.	<i>Comportamiento</i> .....	33
2.17.1.2.	<i>Daño</i> .....	33
2.17.2.	<i>“Minador de hoja” Liriomyza sp</i> .....	34
2.17.2.1.	<i>Ciclo de vida</i> .....	34
2.17.2.2.	<i>Daños</i> .....	34

2.17.3.	<b>“Pulgón de la papa” (<i>Aulacorthum solani</i>)</b> .....	35
2.17.3.1.	<i>Ciclo de vida</i> .....	35
2.17.3.2.	<i>Daño</i> .....	35
2.18.	<b>Degradación del suelo por uso intensivo de plaguicidas</b> .....	36
2.19.	<b>Clasificación de los plaguicidas</b> .....	36

### **CAPITULO III**

3.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	38
3.1.	<b>Características del lugar</b> .....	38
3.1.1.	<i>Ubicación geográfica del área de estudio</i> .....	38
3.1.2.	<i>Localización del laboratorio</i> .....	39
3.2.	<b>Materiales y equipos para el Laboratorio de Fitopatología</b> .....	39
3.2.1.	<i>Materiales de Campo</i> .....	39
3.2.2.	<i>Materiales y equipos para el Laboratorio de Suelos</i> .....	55
3.3.	<b>Metodología</b> .....	55
3.3.1.	<i>Determinación de los plaguicidas en función de la aplicación según el ciclo fenológico</i> .....	55
3.3.2.	<i>Obtención de las muestras de suelos de los tres cuadrantes del lugar de investigación</i> .....	57
3.3.3.	<i>Aislamiento e identificación del microbiota del suelo</i> .....	57
3.3.4.	<i>Aislamiento e identificación de la respiración del suelo</i> .....	60
3.3.5.	<i>Cálculo de los resultados</i> .....	61
3.3.6.	<i>Análisis estadístico</i> .....	61

### **CAPITULO IV**

4.	<b>MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b> .....	62
4.1.	<b>Resultados y discusión del objetivo 1: Diagnosticar los plaguicidas que afectan el microbiota y la respiración del suelo.</b> .....	62
4.2.	<b>Resultados y discusión del objetivo 2: Identificar los hongos y bacterias presentes en el suelo de la comunidad Utuñag del cantón Penipe provincia de Chimborazo hasta el periodo de floración del cultivo de papa.</b> .....	63
2.7.	<b>Respiración basal</b> .....	90
4.3.	<b>Discusión</b> .....	90
4.4.	<b>Comprobación de la hipótesis</b> .....	92

**CAPITULO V**

**CONCLUSIONES.....93**  
**RECOMENDACIONES.....94**  
**BIBLIOGRAFÍA**  
**ANEXOS**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2-1:</b>	Clasificación y características de microorganismos.....	18
<b>Tabla 2-2:</b>	Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad aguda expresada en DL50....	37
<b>Tabla 3-1:</b>	Fungicidas y dosis aplicados en la investigación .....	56
<b>Tabla 4-1:</b>	Cuadro resumen de los fungicidas utilizados .....	62
<b>Tabla 4-2:</b>	Microorganismos identificados en los laboratorios.....	63
<b>Tabla 4-3:</b>	Características culturales de las cepas del género <i>Clonostachys spág.</i> .....	68
<b>Tabla 4-4:</b>	Características culturales de las cepas del género <i>Chaetomium spág.</i> .....	70
<b>Tabla 4-5:</b>	Características culturales de las cepas del género <i>Mucor spág.</i> .....	71
<b>Tabla 4-6:</b>	Características culturales de las cepas del género <i>Aspergillus flavus</i> .....	72
<b>Tabla 4-7:</b>	Características culturales de las cepas del género <i>Aspergillus niger</i> .....	74
<b>Tabla 4-8:</b>	Características culturales de las cepas del género <i>Thichoderma spág.</i> .....	75
<b>Tabla 4-9:</b>	Características culturales de las cepas del género <i>Penicillium spág.</i> .....	78
<b>Tabla 4-10:</b>	Características culturales de las cepas del género <i>Fusarium spág.</i> .....	80
<b>Tabla 4-11:</b>	Características culturales de las cepas del género <i>Acremonium sppág.</i> .....	82

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 3-1:</b> Área de estudio.....	38
<b>Ilustración 4-5:</b> Características culturales de las .....	66
<b>Ilustración 4-6:</b> Características morfológicas de las cepas del género .....	67
<b>Ilustración 4-7:</b> Características culturales .....	69
<b>Ilustración 4-8:</b> Características morfológicas de las cepas de género .....	69
<b>Ilustración 4-9:</b> Características culturales .....	70
<b>Ilustración 4-10:</b> Características morfológicas de las cepas de .....	71
<b>Ilustración 4-11:</b> Características morfológicas de las cepas de género <i>Mucor</i> .....	72
<b>Ilustración 4-12:</b> Características cultura de las .....	73
<b>Ilustración 4-13:</b> Características morfológicas de las cepas de género .....	74
<b>Ilustración 4-14:</b> Características morfológicas de.....	75
<b>Ilustración 4-15:</b> Características .....	77
<b>Ilustración 4-16:</b> Características morfológicas de las cepas .....	77
<b>Ilustración 4-17:</b> Características .....	79
<b>Ilustración 4-18:</b> Características morfológicas de las cepas de género .....	79
<b>Ilustración 4-19:</b> Características culturales .....	81
<b>Ilustración 4-20:</b> Características morfológicas de las cepas de género .....	81
<b>Ilustración 4-21:</b> Características .....	83
<b>Ilustración 4-22:</b> Características .....	83

## **ÍNDICE DE ANEXO**

- ANEXO A:** RECONOCIMIENTO Y MEDICIÓN DE CUADRANTES
- ANEXO B:** RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DEL SUELO NO INTERVENIDO
- ANEXO C:** LIMPIEZA Y PREPARACIÓN DEL TERRENO PARA EL CULTIVO
- ANEXO D:** SIEMBRA DEL CULTIVO DE PAPA
- ANEXO E:** SIEMBRA DE CULTIVOS EN MEDIO-PDA, AN
- ANEXO F:** IDENTIFICACIÓN Y CONTEO DE COLONIAS DE BACTERIAS Y HONGOS
- ANEXO G:** FASE DE LABORATORIO MÉTODO BASAL
- ANEXO H:** PROCESO DE FLUJO PARA EL MÉTODO BASAL EN EL LABORATORIO
- ANEXO I:** PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS PARA EL MÉTODO BASAL
- ANEXO J:** DISEÑOS EXPERIMENTALES DE LA MICROBIOTA Y RESPIRACIÓN DEL SUELO
- ANEXO K:** CICLO FENOLÓGICO DEL CULTIVO DE PAPA HASTA LA ETAPA DE FLORACIÓN
- ANEXO L:** DILUCIONES DE BACTERIAS Y HONGOS EN MEDIO AN, PDA

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar los efectos de los plaguicidas en el microbiota y la respiración del suelo en la comunidad de Utuñag del cantón Penipe provincia de Chimborazo. Se recolectaron muestras de suelo según el ciclo fenológico de la papa hasta el periodo de floración, la primera muestra se tomó del suelo sin ninguna perturbación y las otras 3 muestras aplicadas con fungicidas. Para las muestras que se llevaron al laboratorio de suelo se realizó la respiración microbiana por el Método Basal que se la realiza determinando la producción de O<sub>2</sub> en el medio o bien la concentración de CO<sub>2</sub> desprendido. En cuanto a la determinación de las unidades formadoras de colonias de bacterias y hongos se prepararon las muestras de suelo de las cuales se aislaron las bacterias y hongos tanto de soluciones madres como diluciones 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, que fueron diseminados en cajas petri con medio Agar Papa Destroxa (PDA) y Agar Nutriente (AN) se registró el número Unidades Formadoras de Colonias (UFC). En cuanto a la caracterización cultural se registró el borde, forma, superficie, color anverso y color reverso de la colonia. Con los resultados obtenidos de la caracterización cultural se identificó el género de los microorganismos obteniendo un total de 9 especies de hongos y 11 tipos de bacterias.

**Palabras clave:** < PLAGUICIDA>, <MICROBIOTA >, <UTUÑAG (COMUNIDAD) >, <RESPIRACION BASAL >, < PENIPE (CANTÓN)>, <PAPA (*Solanum tuberosum*)>.

0676-DBRA-UPT-2024

07-06-2024



## ABSTRACT

The objective of this research was to determine the effects of pesticides on the microbiota and soil respiration in the community of Utuñag in Penipe canton, Chimborazo province. Soil samples were collected according to the phenological cycle of the potato until the flowering period. The first sample was taken from the soil without any disturbance and the other 3 samples were applied with fungicides. For the samples that were taken to the soil laboratory, microbial respiration was performed using the Basal Method, which is performed by determining the production of O<sub>2</sub> in the medium or the concentration of CO<sub>2</sub> released. Regarding the determination of the colony-forming units of bacteria and fungi, soil samples were prepared from which bacteria and fungi were isolated from both mother solutions and 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> dilutions, which were spread in petri dishes with Papa Destroxa Agar (PDA) and Nutrient Agar (AN) medium, the number of Colony Forming Units (CFU) was recorded. Regarding the cultural characterization, the edge, shape, surface, front color and back color of the colony were recorded. With the results obtained from the cultural characterization, the genus of the microorganisms was identified, obtaining a total of 9 species of fungi and 11 types of bacteria.

**Keywords:** < PESTICIDE >, < MICROBIOTA >, < UTUÑAG (COMMUNITY) >, < BASAL RESPIRATION >, < PENIPE (CANTON) >, < POTATO (Solanum tuberosum) >.



Lic. Lorena Hernández A. Mcs.

180373788-9

# **“EFECTO DE LOS PLAGUICIDAS EN LA MICROBIOTA Y EN LA RESPIRACIÓN DEL SUELO EN LA COMUNIDAD UTUÑAG DEL CANTÓN PENIPE PROVINCIA DE CHIMBORAZO”**

## **INTRODUCCIÓN**

El suelo es un recurso natural fundamental y su importancia abarca múltiples aspectos ecológicos, económicos y sociales. La degradación del suelo, como la erosión, la contaminación y la pérdida de materia orgánica, puede comprometer su capacidad para desempeñar estas funciones, poniendo en riesgo la sostenibilidad ambiental y la seguridad alimentaria.

Sin embargo, diversas prácticas agrícolas inadecuadas han generado un impacto negativo considerable sobre el recurso suelo, comprometiendo su salud y productividad a largo plazo. Dentro de las malas prácticas en el manejo de las prácticas agrícolas engloban desde monocultivos, uso excesivo de fertilizantes y plaguicidas, labranza intensiva, riego inadecuado, sobrepastoreo, falta de rotación de cultivos.

Las actividades agrícolas han generado recientemente preocupación por el uso de productos químicos sin opinión profesional, lo que está provocando graves cambios ambientales en los ecosistemas de la microbiota del suelo, especialmente en zonas donde el agricultor carece de asesoramiento técnico (Pardo-Plaza, Paolini Gómez y Cantero-Guevara 2019)(Castillo et al., 2020: pág. 2).

Los agricultores utilizan plaguicidas para proteger sus cultivos sin considerar la toxicidad del producto, lo que provoca que los cultivos se contaminen con residuos químicos que afectan el suelo, el aire y el agua. Por eso es importante conocer los procesos de manejo agronómico de los diversos cultivos que ingresan a los mercados locales y nacionales. Por lo tanto, nuestro objetivo es determinar el efecto de los plaguicidas en la microbiota y en la respiración del suelo, utilizando métodos experimentales (Sinchire, Cayambe y Heredia, 2023: pág.88).

Los agricultores no toman importancia con respecto al microbiota, la cual desempeña un papel fundamental en la salud y la fertilidad del suelo, participando en procesos como la descomposición de la materia orgánica, el ciclo de nutrientes, defensa contra enfermedades y la promoción del crecimiento de las plantas. Sin embargo, los plaguicidas diseñados para atacar organismos específicos pueden tener efectos secundarios en microorganismos no objetivo al alterar la composición y función de la microbiota del suelo (González y Fuentes, 2022: pág.129).

Alterando de manera significativa la respiración del suelo, alterando el metabolismo de los microorganismos el cual es un componente clave de los ciclos biogeoquímicos. Los plaguicidas pueden afectar este proceso directa o indirectamente, al perjudicar la cantidad y actividad de los microorganismos responsables de la descomposición de la materia orgánica del suelo. Estos cambios pueden tener consecuencias importantes para la salud y la productividad a largo plazo de las tierras agrícolas (López y Monterroso, 2020: pág.32-33).

Debido a que los plaguicidas son productos de origen químico que controlan en su totalidad a plagas de insectos, ácaros, hongos, bacterias, virus, nematodos, roedores y malezas que afectan de manera directa cualquier tipo de cultivo. Jugando un papel primordial en la productividad y rentabilidad generando que los agricultores dependan de ellos en su totalidad (Díaz et al., 2021: pág.488). Según estudios de INEC (2015) se determinó que el uso de los plaguicidas en la sociedad actual presenta intoxicaciones en el ser humano con síntomas de dolor de cabeza en un 56,4%, ardor de ojos en un 55,1%, cansancio y sueño en un 32,9% y mareos en un 28,5% afectando y deteriorando los sistemas muscular y nervioso.

En el cantón Penipe 37,71% de su superficie presenta suelos Andepts, correspondiendo a un grupo de Inseptisoles derivados de materiales volcánicos caracterizados por su fertilidad, generando que el cantón resalte su actividad agrícola a gran escala, pero también existen suelos que carecen de esta característica teniendo una degradación y erosión muy significativa por malas prácticas agrícolas y ganaderas (GAD PENIPE, 2016). Es así que se realiza este trabajo de investigación con la finalidad de demostrar que el uso inadecuado de plaguicidas químicos afecta el microbiota y la respiración del suelo siendo estos propensos a enfermedades en sus cultivos, generando que se vuelvan resistentes a las plagas, desencadenando poca fertilidad y una rentabilidad baja para los agricultores de la comunidad de Utuñag.

## CAPÍTULO I

### 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1 Planteamiento del Problema

El mal manejo de diversas prácticas agrícolas inadecuadas ha generado un impacto negativo considerable sobre el recurso suelo. Un ejemplo de esto es el uso excesivo de plaguicidas en la agricultura moderna, una estrategia clave para satisfacer la creciente demanda de alimentos y proteger los cultivos de plagas y enfermedades. Sin embargo, esta práctica no está exenta de efectos ambientales negativos. Una de las cuestiones críticas es el impacto de los plaguicidas en el microbiota y la respiración del suelo en la comunidad de Utuñag, donde los agricultores no cuentan con ningún tipo de asesoramiento y colocan cualquier tipo de fungicida.

Los plaguicidas afectan el microbioma y el proceso dañino de respiración del suelo, afectando directamente la abundancia y actividad de los microorganismos responsables de la descomposición de la materia orgánica, provocando un drenaje deficiente y una pérdida inmediata de nutrientes beneficiosos para el suelo y el crecimiento de los cultivos.

La respiración del suelo puede tener impactos a largo plazo en la calidad del suelo y la sostenibilidad de las prácticas agrícolas en la comunidad de Utuñag, llevando a su completa degradación. Por lo tanto, la siguiente investigación en esta área no solo contribuirá al conocimiento y la ciencia, sino que también informará las decisiones sobre políticas agrícolas y prácticas agrícolas más sostenibles para un futuro mejor.

#### 1.2 Objetivos

##### *1.2.1. General*

Determinar el efecto de los plaguicidas en el microbiota y en la respiración del suelo en la comunidad Utuñag del cantón Penipe Provincia de Chimborazo.

##### *1.2.2. Específicos*

- Diagnosticar los plaguicidas que afectan el microbiota y la respiración del suelo.

- Identificar los hongos y bacterias presentes en los suelos de la comunidad Utuñag cantón Penipe provincia de Chimborazo hasta el periodo de floración del cultivo de papa.

### **1.3. Justificación**

Los plaguicidas son ampliamente utilizados en la agricultura para controlar plagas, prevención de enfermedades, manejo de malezas, protección de cultivos almacenados y aumento de la productividad pero que también pueden tener efectos negativos en el medio ambiente, salud humana y la biodiversidad al realizarse un uso excesivo o indebido de los mismos.

Además, se debe recalcar la importancia del microbiota y la respiración del suelo ya que es fundamental para la salud y la fertilidad de los ecosistemas agrícolas, así como para la seguridad alimentaria y la sostenibilidad ambiental. Esta investigación puede contribuir a comprender mejor estos efectos y a informar prácticas agrícolas más sostenibles y amigables con el medio ambiente para evitar alteraciones del microbiota y la disminución de la respiración del suelo.

Finalmente, este estudio tiene implicaciones tanto a la comunidad científica como para los agricultores y formuladores de políticas y regulaciones ya que se está proporcionando evidencias importantes sobre los posibles impactos de los plaguicidas y la respiración del suelo en la producción de alimentos.

Al comprender como los plaguicidas afectan al suelo permitiéndoles tomar decisiones relevantes a los agricultores sobre el uso de pesticidas y adoptar prácticas que minimicen impactos adversos en la calidad del suelo minimizando los riesgos asociados con el uso de plaguicidas.

### **1.4. Hipótesis**

#### **Nula**

Los plaguicidas utilizados no tienen efecto en la Microbiota ni en la respiración de los suelos de la comunidad Utuñag.

#### **Alternativa**

Al menos uno de los plaguicidas utilizados tiene efecto en la respiración de los suelos de la comunidad Utuñag.

#### *1.4.1.1. Variables*

##### **Dependiente**

- Población de la microbiota y respiración del suelo

##### **Independiente**

- Plaguicidas

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.3. Utuñag-Penipe

##### 2.3.1. *Características del lugar del suelo*

La composición edafológica del Cantón Penipe corresponde los subórdenes; AQUEPTS, ANDEPTS, ANDEPTS – PSAMMENTS, PSAMMENTS, FLUVENTS, ORTHENTS; además existen zonas que se caracterizan por presencia de nieve, roca y áreas que carecen de suelo. El 37,71% de la superficie del cantón presenta suelos ANDEPTS, estos suelos corresponden al grupo de los insectisoles derivados de materiales parentales volcánicos, se caracterizan por su alta fertilidad, propicio para el desarrollo de actividades agrícolas y pecuarias; se evidencia además un alto porcentaje de zonas que carecen de suelo (38,27%), en donde afloran materiales parentales, la vegetación ha sido eliminada por consecuencias de las bajas temperaturas y/o en otros casos la erosión por vientos ha contribuido a la pérdida paulatina del suelo y su desintegración (GAD Municipal del Cantón Penipe 2022).

De acuerdo a la clasificación agrológica, el 39,91% del territorio cantonal, debería dedicarse a la preservación de la vida silvestre, recreación y preservación de microcuencas hídricas; debido a que presentan pendientes muy escarpadas con excesiva pedregosidad y rocosidad, con posibilidades de severa erosión, por lo que no son aptas para ningún uso agropecuario (Clase VIII). El 21,19% del territorio tiene potencial forestal (Clase VII), mientras que el 20,09% debería ser dedicado a la implementación de pastizales bajo sistemas silvopastoriles (Clase V); el 3,87% puede ser dedicado a actividades agrícolas, con la aplicación de técnicas de conservación de suelos (Clases I, II y III) (GAD Municipal del Cantón Penipe 2022).

##### 2.3.2. *Relieve*

El cantón presenta un variedad de relieves, desde los edificios volcánicos y áreas de nieve perpetua (subnivel), hasta las zonas bajas, donde se asientan la mayoría de las poblaciones; aproximadamente el 33,76% del territorio del cantón está constituido por relieves de tipo Vertiente Andina Alta, que se caracteriza por encontrarse desde los 3600 a los 4300 msnm, en esta zona se localizan la mayor parte de los ecosistemas naturales (GAD Municipal del Cantón Penipe 2022).

Utñaag se caracteriza en tener la mayor superficie de relieve Pie de Monte Escarpado Alta Montaña, con el 23,52%, además del 46,03% de Pie de Monte Plano de Alta Montaña; el 28,98% de la superficie con relieves Pie de Monte inclinado de Alta montaña se localiza en el territorio del centro parroquial de Matus, de igual manera el 38,20% de terrenos con relieve Pie de Monte Ondulado de Alta Montaña (GAD Municipal del Cantón Penipe 2022).

### **2.3.3. Precipitación (Isoyetas)**

La precipitación mínima anual de 500 a 750 mm (región occidental) y la máxima de 2000 a 2500 mm/anuales, esta última en la zona oriental del cantón. Penipe está bajo la doble influencia del Oriente y Sierra; sin embargo, el ritmo de estaciones sigue al de la Sierra. Los datos de la serie Pluviométrica de 1965-1984 de la estación Penipe permiten dar una idea de la repartición estacional de las precipitaciones. Una pequeña Temporada de Precipitaciones, se aprovecha para hacer siembras, que va de finales de Octubre a inicios de Diciembre; viene seguido de un pequeño verano, breve temporada seca del inicio del año en la Sierra que dura los meses de enero y febrero; la temporada de invierno dura desde fin de Marzo a Julio, en esta época de floración, la fecundación y engrose del grano de cultivo mayoritario de la zona destaca el Maíz (Guanga 2022).

Luego se tiene una temporada seca veraniega de la Sierra (de Julio a mediados de Octubre), destacando la humedad de Penipe a diferencia de lo demás de la Sierra por la influencia del Oriente. A nivel comunitario, las zonas bajas de las comunidades de; Manzano, Ganshi, Shamanga, Nabuzo, centros parroquiales de Puela, Altar, ostentan una precipitación media anual de 500 a 750 mm; de igual manera la totalidad de los territorios de las comunidades de Guzo, Naguantus, Puchiquires, La libertad, Bayushig (matriz), Uñaag, Colaytus, Penicucho Bajo y Penipe presentan el mismo rango de precipitación media anual. Bilbao, Yiubug, El Manzano, Anabá, Palictahua, Pachanillay, Ayanquil, Calshi, Matus Alto se encuentran en zonas donde la precipitación media anual es de 750 a 1000 mm; mientras que La Candelaria, Pungal de Puela, Utñaag, Matus (matriz), Tarau y Releche, presentan precipitaciones de 100 a 1750 mm/anuales, las zonas altas de estas comunidades presentan rangos de precipitación que oscilan desde los 1750 a 2500 mm/anuales (GAD Municipal del Cantón Penipe 2022).

### **2.3.4. Temperatura (Isotermas)**

La temperatura media estimada en el cantón es de 12.5°C, con un rango máximo que varía entre 10°C – 12°C media anual y mínimo de 2 a 4°C, esta última sobre todo en las inmediaciones del Altar, como también en las zonas altas de las comunidades Releche, Tarau y Candelaria;

temperaturas de 4 a 6°C/anual son frecuentes en las zonas altas de las comunidades de Calshi, Matus Alto y Nabuzo; las zonas altas de Utuñag, Palictahua, Azacucho, Ayanquil y Shamanga presentan una temperatura media anual de 6 a 8°C; Las demás comunidades poseen una temperatura de 8 a 10°C/anual, tan solo en la zona baja-oriental de Bilbao, se presentan temperaturas medias anuales de 10 a 12°C (GAD Municipal del Cantón Penipe 2022).

### **2.3.5. Pisos climáticos**

Ecuatorial Frío Semi Húmedo Alta Montaña (29,51% del territorio) en las zonas altas de las comunidades Pungal de Puela, Utuñag, Matus, Tarau, Candelaria y Releche; y Ecuatorial Frío Alta Montaña (70,49% de la superficie del cantón), en las demás comunidades del cantón (GAD Municipal del Cantón Penipe 2022).

### **2.3.6. Humedad**

Humedad relativa del 65 a 85% (Ecuatorial Frío Semi Húmedo Alta Montaña) y Superior al 80% (Ecuatorial Frío Alta Montaña) (GAD Municipal del Cantón Penipe 2022).

### **2.3.7. Tipos de cultivos**

Su rol es integrar la producción de granos y tubérculos andinos, frutales y la crianza de animales menores, corresponde a las comunidades de Nabuzo, Calshi, Matus Alto, Palictahua, Pachanillay, El Manzano, Puelo (Centro Parroquial), Anaba, Tarau y Yuibug (Plan de Desarrollo de Ordenamiento Territorial del Cantón Penipe 2014). Dentro de los cultivos que se desarrollan en el cantón Penipe tenemos maíz, papa, fréjol, manzana, mora, haba, tomate de árbol, tomate de riñón, zanahoria (PDOT del cantón Penipe 2012).

## **2.4. Importancia agrícola de la comunidad Utuñag**

La agricultura es la producción, procesamiento, comercialización de cultivos y de productos ganaderos, desempeñando un papel trascendental en la economía del país, convirtiéndose en la columna vertebral de nuestro sistema económico, que no sólo suministra alimentos, materias prima, y proporciona oportunidades de empleo a la población (GADPenipe 2020).

El sector agrícola tiene una importancia vital para todos los países no importa que sean subdesarrollados o desarrollado. Ayuda a compensar las necesidades fundamentales de los

ciudadanos de país como comer vestirse, asegura oportunidades de empleo para ellos mismo (Gálvez Feijoo 2021).

## 2.5. Suelos agrícolas de la comunidad Utuñag

**Tabla 2-1:** Suelos agrícolas de la comunidad Utuñag.

Porcentaje (%)	Clasificación	Limitaciones	Uso recomendado
0-5	Plano	Buena para todas las operaciones de mecanización, suelos sin piedras, muy adecuado para riego.	Agricultura sin limitaciones para todo tipo de cultivo
5-12	Ondulado	Bueno para todas las operaciones de mecanización, conveniente para riego	
12-25	Inclinado	La mecanización es posible pero solamente para algunos tipos de maquinaria, restricciones y dificultades para riego	Cultivos con obras de conservación, terrazas de formación lenta (para hortalizas, papas, maíz, frutales)
25-50	Escarpado	Posible mecanizar en algunos lugares, pero dificultad para la mayoría; hay enormes dificultades para regar, hay peligro de erosión; cultivos con obras de conservación, riego restringido (goteo o aspersión)	Potreros naturales con sistemas silvopastoriles y plantaciones forestales. Mejor reforestar y conservar.
50-70	Muy escarpado	Mecanización imposible para todas las operaciones de cultivo, hay peligro de erosión y deslizamientos; son suelos mezclados de materiales varios sobre las pendientes	No se debe realizar ninguna actividad. Bosques para la conservación de los suelos.
>70		No hay ninguna posibilidad para la agricultura o la ganadería, hay peligro de erosión y deslizamientos	

Fuente: (GADPenipe 2020).

## 2.6. Clasificación, importancia y diversidad de microorganismos en el suelo

Los microorganismos del suelo desempeñan funciones muy importantes en el ecosistema y estas poblaciones están muy relacionadas con el tipo de suelo, características climáticas y comunidades de plantas. El suelo está formado por cinco componentes principales: minerales, agua, aire, materia orgánica y seres vivos, cuya proporción no es la misma en todos los suelos. El aire y el agua juntos representan alrededor de la mitad del volumen del suelo. El agua se mueve por acción de la gravedad atravesando los poros más grandes y una parte es retenida por interacciones con los otros constituyentes inertes, siendo aprovechada por los organismos vivos sólo una fracción de la misma. La aireación y la humedad están interrelacionadas, ya que los poros que no contienen agua están llenos de gas (Condori 2021).

### ***2.6.1. Tipos de Microorganismos***

Existen en la tierra desde aproximadamente 3500 millones de años. Son los microorganismos más abundantes y pequeños (0,1 a 1 micra). Pueden ser aerobias (crecen con oxígeno), anaerobias (crecen sin oxígeno) o facultativas (crecen con o sin oxígeno). Pueden tolerar pH ácido, pH básico o pH neutro. Conocemos menos del 10 % de las bacterias y estas presentan los organismos más abundantes en el planeta. En suelos ácidos algunas bacterias neutrofilas tienen la capacidad de neutralizar el suelo donde se están desarrollando para cumplir su función gas (Condori 2021).

#### ***2.4.1.1. Bacterias***

Las bacterias son extremadamente importantes, puesto que ellas pueden producir cambios químicos en el medio que las rodea, algunas producen nutrientes a partir de sustancias inorgánicas, otras viven absorbiendo materia orgánica. Las bacterias no son solamente útiles, si no esenciales para la vida. Los suelos son desmantelados o descompuestos por las bacterias en nutrientes que son absorbidos luego de las raíces (Garzón, Martínez y Romero 2022).

#### ***2.4.1.2. Protozoarios***

Los protozoarios son muy abundantes en suelos sanos. Estos microorganismos contribuyen transformando nutrientes en formas disponibles para las plantas, y a la vez, sirviendo de alimento para otros organismos del suelo, como los nematodos, también favorecen a otros macro organismos como la lombriz de tierra, porque se alimenta de bacterias y protozoarios, y a la vez excreta microorganismos no patógenos para las plantas (Garzón, Martínez y Romero 2022).

#### 2.4.1.3. *Nemátodos*

Los nematodos son organismos del suelo que contribuyen al equilibrio de las poblaciones de microorganismos y ayudan a mantener cierta cantidad de bacterias y protozoarios, dentro de poblaciones aceptables. Indica las actividades de los nematodos:

- Mineralizan nutrientes a formas asimilables para las plantas.
- Son fuente de alimento para otros organismos que influyen en la estructura del suelo.
- Regulan poblaciones de microorganismos al alimentarse de estos.
- Algunos nematodos parasitan a larvas de coleópteros, equilibrando sus poblaciones. Como los nematodos *Heterorabditis bacteriophora* entre muchos otros (Garzón, Martínez y Romero 2022).

#### 2.4.1.4. *Actinomicetos del suelo*

Son microorganismos que tienen parecido a los hongos y a las bacterias, se encuentran en el suelo, las aguas estancadas, el lodo y los materiales orgánicos en degradación. Los actinomicetos se nutren de materiales orgánicos, son importantes en el proceso de transformación del humus en el suelo, son considerados como los mejores agregados del suelo debido a su eficiencia de producir sustancias húmicas y con sus micelios unen partículas de suelo suelto ayudando a la formación de agregados (Orduz Tovar, Machado Cuéllar y Rodríguez Suárez 2021).

#### 2.4.1.5. *Hongos del suelo*

Son importantes degradadores aerobios de material vegetal en descomposición en suelos ácidos. Producen enzimas y metabolitos que contribuyen al ablandamiento y a la transformación de sustancias orgánicas. También estas enzimas forman parte de la actividad de otros microorganismos. Son muy importantes en suelos con desechos de cosecha. Su crecimiento ramificado rápido y la intensa actividad degradadora les permiten mantener un equilibrio en los ecosistemas del suelo (Orduz Tovar, Machado Cuéllar y Rodríguez Suárez 2021).

#### 2.4.1.6. *Microorganismos fijadores de nitrógeno*

Entre los géneros de bacterias aerobias fijadoras de nitrógeno están *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Derxia*, *Azomonas*, *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Oscillatoria* y más del género *Nitrobacter*. Son la fuente primaria del suministro de nitrógeno a las plantas porque son fijadoras de nitrógeno atmosférico. Algunas bacterias, actinomicetos y algas verdes azules (cianofíceas)

reducen el nitrógeno atmosférico a nitrógeno amoniacal y lo incorporan al suelo donde la raíz lo absorbe (Orduz Tovar, Machado Cuéllar y Rodríguez Suárez 2021).

#### *2.4.1.7. Microorganismos simbióticos fijadores de nitrógenos*

Los Rhizobium son bacterias noduladoras que fijan simbióticamente el nitrógeno en algunas leguminosas. La simbiosis entre el microorganismo y la planta se fundamenta en que el primero recibe carbohidratos de la planta y este le suministra nitrógeno después de su muerte. De esta manera se da una asociación entre la rizobacterias y las nitro fijadoras no simbióticas, como el Azotobacter al incrementar el suministro de nitrógeno a la planta (Orduz Tovar, Machado Cuéllar y Rodríguez Suárez 2021).

#### *2.4.1.8. Microorganismos que transforman el fosforo*

La movilización del fosforo es muy lenta y en la naturaleza esta actividad la hacen los microorganismos, ya que participan en la disolución y transformación del elemento hasta combinaciones asimilables por las plantas y también en la fijación temporal del fosforo. Cuando se incorporan al suelo residuos de cosecha, materiales orgánicos, enmiendas, estiércol, se agregan gran cantidad de compuestos orgánicos. El fosforo orgánico es hidrolizado por la enzima fosfatasa que segregan los microorganismos y libere el fosfato, para que sea asimilado por la planta (Orduz Tovar, Machado Cuéllar y Rodríguez Suárez 2021).

#### *2.4.1.9. Microorganismos que transforman azufre*

El azufre es esencial en la nutrición de las plantas pues participa en la formación de aminoácidos y vitaminas. Las plantas lo asimilan como sulfato. De descomposición de la materia orgánica por los microorganismos provoca la degradación de aminoácidos hasta obtener sulfatos. También se degradan sulfatos orgánicos (Garzón, Martínez y Romero 2022).

#### *2.4.1.10. Microorganismos que movilizan el potasio*

El potasio es retenido por los constituyentes del suelo, pero solo una parte es soluble y otra gran fracción se fija al suelo quedando en formas no intercambiables. Bacterias de los géneros Basillus, Pseudomonas y Clostridium y hongos como Aspergillus, Penicillium y Mucor solubilizan el potasio mediante la liberación de ácidos orgánicos o inorgánicos que reaccionan con los minerales que los contienen. Estos microorganismos descomponen minerales de aluminosilicatos y liberan parte del potasio contenido en ellos (Garzón, Martínez y Romero 2022).

#### 2.4.1.11. *Micorrizas*

Son organismos que viven en simbiosis con las raíces de las plantas, de ahí deriva su nombre “myces - rhiza” (hongo - raíz). Su descubridor fue el botánico polaco Franciszek Dionizy Kamienski, en 1882 y se creía que solo algunas plantas las tenían, confirmándose en 1900 que la mayoría de las plantas poseen en sus raíces la capacidad de desarrollarlas. Las micorrizas forman parte del ecosistema del suelo, esto es, de las redes alimenticias de microorganismos, que favorecen la nutrición de las plantas (Garzón, Martínez y Romero 2022).

Se menciona a continuación los siguientes tipos de micorrizas:

**Ectomicorrizas.** El micelio invade las raíces sin entrar al interior de las células. Este tipo de micorrizas es el menos común, aunque juega un papel muy importante en el desarrollo de muchas especies forestales.

**Endomicorrizas.** Este tipo de organismos invade la raíz y penetra entre sus células y en algunos casos llega a penetrar la célula radical. Las endomicorrizas son las más comunes en el mundo. Por su forma de asociarse con la raíz, formando vesículas y arbusculos, se les denomina v/a (vesículo - arbusculares) y pertenecen al grupo de las glomales.

**Ecto-endomicorrizas.** Aunque no son muy comunes, se encuentran en plantas de varios ecosistemas (Condori 2021).

### **2.5. Unidades formadoras de colonias**

En suelos donde no existen microorganismos la fertilidad se reduce considerablemente y las plantas no pueden crecer normalmente, porque no hay intercambio gaseoso y la cantidad de nutrimentos es mínima, por lo que se hace indispensable la adición de enmiendas y de fertilizantes en grandes cantidades.

El radio microbiológica circunstancia cacho de las actividades cotidianas, diariamente los microorganismos los encontramos participando de moda benéfica y perjudicial, desarrollando diferentes papeles. En el radio biológico, una de las tareas es el ostracismo y la identificación. Dependiendo del fulano de notificación y disección es ineludible asimilar el policía de unidades formadoras de colonias (UFC) presentes, oriente policía es tomado en cuentecilla (NoRAE) para despreocuparse los estándares establecidos humillada normatividad en el radio de los alimentos,

en el radio de salud, disección de agua, porte y carretera entre otros. Para esta disección los expertos de estas áreas realizan conteos manuales ya harto rudimentarios que consumen grandes cantidades de legislatura con resultados que varían según quien realice el conteo (Sánchez F et al. 2017).

Según la importancia de estos microorganismos causantes muchas ETA importantes, los laboratorios creen necesario utilizar muchas técnicas diferentes para aislar y enumerar los microorganismos presentes en muchos alimentos. Sin embargo, se debe realizar una prueba para su identificación. Cuando se utilizan varias muestras, estos pasos de rutina suelen consumir mucho tiempo y reactivos. Esto se debe a que la identificación requiere sembrar los microorganismos en múltiples medios para distinguir entre las bacterias de interés y es posible que deba realizarse dos o tres veces para aumentar la confianza en los resultados obtenidos. resultado (Sánchez F et al. 2017).

En este estudio, controlamos varios parámetros que afectan el crecimiento bacteriano, generamos imágenes de las muestras controladas, realizamos la prueba usando una aplicación móvil y utilizamos un sistema de visión por computadora para automatizar la cuantificación de colonias bacterianas. Recorte imágenes, conviértalas a escala de grises, mejore el contraste y segmente imágenes para hacerlas importantes (Sánchez F et al. 2017).

Para estudiar las propiedades físicas, químicas y fisiológicas de las bacterias, es necesario aislarlas en cultivo puro. Para ello, el primer paso es la separación en una placa de Petri. Una vez preparado el medio, se puede utilizar para inoculación e incubar en condiciones que favorezcan el crecimiento microbiano. Existen varias técnicas para aislar bacterias. Los más utilizados son el rayado cruzado, el adelgazamiento, el enchapado y la extensión de varilla (Sánchez F et al. 2017).

Los nutrientes que necesitan las bacterias que se cultivan están contenidos en el medio de cultivo. Los medios son soluciones nutritivas que se utilizan en los laboratorios para cultivar microorganismos (Sánchez F et al. 2017).

NOM-065-SSA-1993, que establece especificaciones sanitarias para los medios, clasifica los medios según su uso:

- Medios selectivos
- Medios selectivos para enriquecimiento
- Medio diferencial

Las colonias bacterianas obtenidas utilizando estas técnicas en estos medios se pueden examinar en términos de morfología, identificación, crecimiento y actividad metabólica de las colonias bacterianas (Sánchez F et al. 2017).

## **2.6. Importancia del microbiota en los suelos agrícolas**

La importancia de la composición y las interacciones de las comunidades microbianas del suelo es indiscutible. La fertilidad del suelo está controlada principalmente por la actividad biogeoquímica del microbiota, que actúa como fuente de nutrientes potenciales para las plantas.

La actividad microbiana influye en gran medida en el aumento o disminución de la fertilidad del suelo, así como en la velocidad a la que se recupera el suelo degradado. El cambio climático global afectará estos procesos y necesitamos una mejor comprensión de cómo las afecta. La creciente población mundial y la consiguiente demanda cada vez mayor de alimentos y dietas más ricas debido a la mejora de las condiciones de vida y el uso de la tierra para la producción de biocombustibles en algunos países en desarrollo están impulsando a los sistemas agrícolas a aumentar la productividad, lo que generará mucha presión de forma sostenible. Las teorías y modelos que predicen los impactos del cambio de uso de la tierra pueden no sólo ayudar a calcular el equilibrio de riesgos y beneficios, sino que, en última instancia, también ayudan a desarrollar estrategias de intervención para el microbioma del suelo. Ya existen varias vacunas agrícolas multiorganismos que apuntan en esta dirección, y esto es sólo el comienzo (Soria 2016).

Los microorganismos del suelo son la fuente de muchos productos de uso común, como las enzimas biotecnológicas. La categoría más conocida es definitivamente la de los antibióticos. En una situación en la que la resistencia a los antibióticos está aumentando y el número de productos potenciales que las compañías farmacéuticas están probando es francamente pequeño, la bioprospección de microorganismos con sustancias con actividad antimicrobiana es prometedora. Las investigaciones realizadas durante las últimas dos décadas han revelado una enorme biodiversidad. La biodiversidad consiste en un gran número de especies con un pequeño número de miembros por gramo de suelo, la mayoría de las cuales no son cultivables y que pueden interactuar con otros microorganismos en formas que aún no se comprenden con precisión. Esta es la verdadera "materia oscura" del suelo y puede ser una valiosa fuente de productos biológicos (Soria 2016).

## **2.7. Métodos de caracterización e identificación de microorganismos (bacterias y hongos)**

Actualmente, la identificación bacteriana se realiza mediante métodos tradicionales basados en rasgos fenotípicos. Esto se debe a que es un método más asequible en cuanto a su implementación y coste. Los métodos de genotipado se utilizan normalmente para bacterias que no pueden identificarse mediante métodos tradicionales (Bou et al. 2011).

La identificación fenotípica bacteriana se basa esencialmente en comparar las características fenotípicas de una bacteria desconocida con las de un cultivo típico. La confiabilidad de la identificación es directamente proporcional al número de características similares. En microbiología clínica, la experiencia y la relación entre los microorganismos y la localización y tipo de infección son de gran ayuda en la identificación preliminar (Bou et al. 2011).

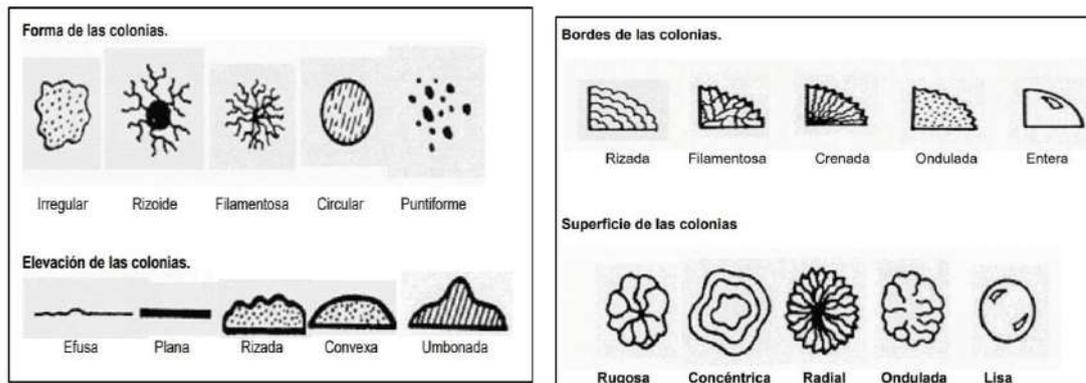
En el proceso tradicional de identificación bacteriana se establecen algunos niveles de procesamiento. Todas las características fenotípicas conocidas son importantes y deben considerarse al inicio del proceso de identificación, pero como regla general se seleccionan aquellas que se consideran pruebas primarias. Estos son rápidos y fáciles de hacer. B. Morfología con tinción de Gram u otras tinciones, crecimiento en diferentes atmósferas de incubación, crecimiento en diferentes tipos de medios, oxidasa y catalasa. Estas diversas pruebas generalmente permiten asignar tentativamente una bacteria a uno de los principales grupos de importancia médica. Dado que muchos microorganismos pueden tener una apariencia muy similar cuando se examinan macroscópica y microscópicamente, se pueden seleccionar otros métodos con mayor poder discriminatorio (Bou et al. 2011).

### ***2.7.1. Caracterización cultural***

En lo que respecta al método cultural se parte de la observación y la similitud que los organismos presenten con otros organismos previamente ya estudiados. Según Lescano (2015), los aspectos culturales se pueden apreciar a simple vista entre los cuales se encuentran el color de la colonia de microorganismos fúngicos en el anverso como en el reverso de la colonia, textura, forma, relieve, el crecimiento y la pigmentación del sustrato también se pueden describir los siguientes aspectos:

- Forma de la colonia: la colonia puede ser aterciopelada, pulverulenta, algodonosa, rugosa, plegada, cerebriforme, granulosa.
- Consistencia: entre las cuales podemos mencionar dura, membranosa, blanda, suave, etc.

- Relieve: plana o elevada.
- Pigmentación: esta puede ser variable dependiendo del tipo de micelio y de la presencia de estructuras reproductivas. Además, el reverso de la colonia puede presentar un pigmento expansivo.
- Tipo de micelio: vegetativo, reproductivo.



**Ilustración 2-1:** Características de las colonias.

**Fuente:** Lescano, Alfonso et al., 2015.

Las bacterias son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria y forman el reino procariótico (procariótico para los primitivos y eucariótico para los nucleares). Una forma de identificar procariotas es mediante tinción. Durante este proceso, las moléculas de tinte se adsorben en la superficie. Mediante el uso de tintes, las células microbianas pueden cambiar de color y pueden observarse con un microscopio óptico. Las bacterias son casi incoloras, por lo que no presentan contraste con el medio en el cual se encuentran suspendidas y no pueden observarse claramente sin algún tratamiento previo (Rodríguez 2016).

De negociación a la hipersensibilidad que ocurre, existen diferentes tipos de tinción:

- Tinción simple: La tintura empleada sirve romana para denotar la morfología celular.
- Tinción diferencial: Los colorantes utilizados muestran diferencias entre células bacterianas o entre partes de una misma célula. Estas técnicas utilizan múltiples colorantes o reactivos complementarios específicos para la coloración.

La tinción de Gram, desarrollada por el médico danés Hans Christian Joachim Gram, es una técnica común y utilizada con frecuencia para realizar un diagnóstico preliminar para identificar bacterias. La tinción de Gram permite distinguir entre los dos grupos de bacterias Gram positivas y Gram negativas, y también revela cómo se agrupan, la estructura de las células y su tamaño (Rodríguez 2016).

### 2.7.2. Caracterización morfológica (microscopia luz)

La microscopia de luz permite obtener una imagen aumentada de los objetos o detalles muy pequeños en micología se utiliza para determinar los caracteres microscópicos de las setas y hongos logrando visualizar todos los caracteres importantes mediante el empleo del microscopio óptico efectuando visualizaciones con magnitudes diferentes (20x, 40x, 60x, 100x) se empieza con la magnitud de menor tamaño y gradualmente se va subiendo para enfocar el objeto, esta forma es la más fácil para localizar y enfocar el objeto situado en el portaobjetos, donde se determina la forma de las hifas, el tamaño de las esporas, forma y tamaño de las colonias de hongos (Osorio, y otros, 2019).

La unidad básica de la vida es la célula y, a pesar de su complejidad y diversidad, todas las células vivas se pueden dividir en dos categorías amplias según su estructura cuando se observan a través de un microscopio electrónico: eucariotas y procariotas. Las células procariotas y eucariotas son químicamente similares: ambas contienen ácidos nucleicos, proteínas, lípidos, carbohidratos y ambas utilizan los mismos tipos de reacciones químicas para metabolizar los alimentos, sintetizar proteínas y almacenar energía (Gárces y Saravia, 2011, pág. 3). Los microorganismos se pueden dividir en dos tipos de células que son: Eucariota que poseen un verdadero núcleo poseen una organización completa en comparación con las células procariotas (Ciencias de la Salud, 2023).

**Tabla 2-1:** Clasificación y características de microorganismos.

	Procariotas	Eucariotas
Estructura nuclear y función		
- Membrana nuclear	Ausente	Presente
- Nucleolo	Ausente	Presente
- ADN	Una molécula	Varios cromosomas
División	Fisión binaria	Mitosis y meiosis
Estructura citoplasmática y organización		Presenta esteroides
- Membrana citoplasmática	Carece de esteroides	80S
- Ribosomas	70S	En las mitocondrias
- Sistema respiratorio		

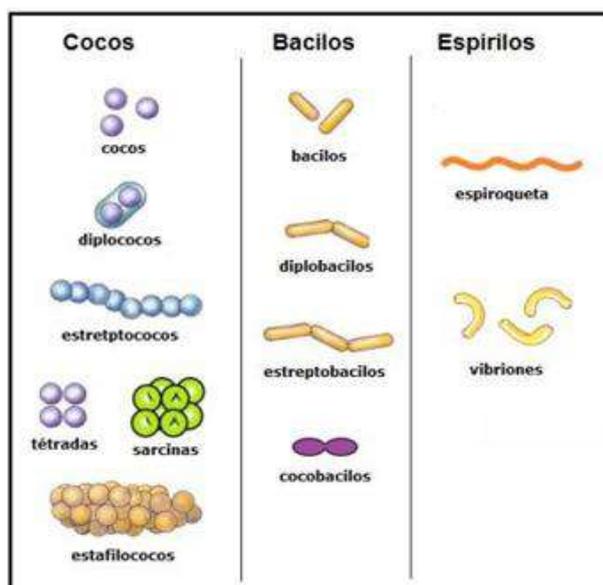
	En la membrana plasmática	
Pared celular	Estructura compleja con peptidoglucano	Cuando la presenta, no contiene peptidoglucano
Mecanismos metabólicos	Gran variedad, en particular reacciones anaeróbicas que generan energía.	Glicolisis es la vía para obtener energía en condiciones anaeróbicas
Tamaño	Menos de 2 um	Desde 2 um hasta más de 100 um
Ejemplos	Bacterias Algas verdes – azules	Protozoarios Hongos

Fuente: (Ciencias de la Salud, 2023)

Las bacterias se multiplican rápidamente cuando se cultivan en un medio sólido adecuado. Las unidades formadoras de colonias constan de una o más características, tales como:

Los tamaños varían desde 0,5 mm o más. La forma de las colonias puede ser: irregular, punteada o redonda. El borde puede ser ondulado, entero, ramificado, filamentosos. Los tipos de superficie de las colonias son: plana, curva y elevada (Bastidas Cevallos y Vaca Viraccucha 2018, pág.17).

De acuerdo a Guillen (2020) la visualización microscópica de las bacterias teñidas con un objetivo de 100x permite observar su forma y agrupación. Entre las formas de bacterias se pueden distinguir las siguientes:



**Ilustración 2-2.** Morfología microscópica de bacterias

Fuente: (Guillén Nepita, 2020)

Bajo el microscopio, también se puede entender que algunas de estas tienden a vivir libres y no en contacto físico con otras células, y que ciertas especies de bacterias tienden a permanecer agrupadas después de la reproducción. Reconocer el patrón de agrupación es importante porque nos da pistas sobre la posible identidad de las bacterias que observamos. Las bacterias se pueden clasificar de las siguientes maneras. Además, se pueden agrupar en (Guillen Nepita, 2020):

**Estrepto:** Una célula forma una fila al lado de otra célula. Un grupo así puede existir tanto en cocos como en bacilos. Si son cocos se dice que son del grupo de los estreptococos, y si son bacilos se llaman estreptococos, aunque rara vez se utiliza este término. La conexión entre los bacilos, que se acumulan en cadenas, se realiza a través de bordes estrechos.

**Racimos (estafilo):** este grupo se ve en los cocos. Tienen forma redonda y están apilados en todas direcciones, asemejándose a racimos de uvas. Al observar este grupo, se le llama *Staphylococcus aureus*.

**Pareados (Diplo):** Cuando los árboles suelen aparecer en pares, se les llama diplococos. Algunos bacilos también pueden presentar este grupo y formar un bibacilo.

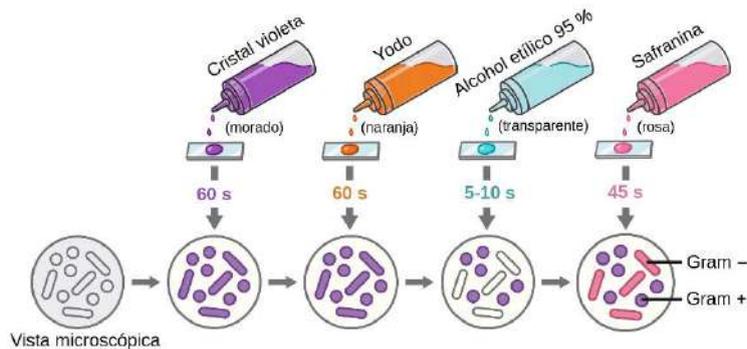
**Tétrada:** grupo de cuatro cocos.

**Sarcinas:** ocho cocos divididos en dos capas de 4 celdas cada una

**En empalizadas:** Esta agrupación ocurre entre bacilos y cuando las células de este tipo se agrupan a lo largo de sus bordes largos, similar a las placas en empalizada (Guillen Nepita, 2020).

**Tinción de Gram**

La tinción de Gram es un experimento potente y rápido que nos permite distinguir entre dos tipos de bacterias: bacterias grampositivas y bacterias gramnegativas. Las bacterias grampositivas se tiñen de color púrpura porque el tinte queda atrapado en la gruesa capa de peptidoglicano que rodea la célula. Las bacterias Gram negativas tienen una capa más fina de peptidoglicano, por lo que no retiene el cristal violeta, por lo que las células se tiñen con safranina y vemos que se ven rosadas (Vargas Gutierrez, 2018, pág. 34).



**Ilustración 2-3:** Reactivos usados en la tinción de Gram

Fuente:(Labster, 2023)

## Hongos

Es la observación de en un microscopio: forma, tamaño, agrupación, color, etc. Se describen las hifas: tabiques o tabiques, espesor, forma de las hifas. Para garantizar la visualización, se recoge la muestra de una colonia de la placa con un gancho y coloque una gota de lactofenol u otro líquido de montaje en el gancho, que teñirá la estructura y así, facilitar la visualización. Para obtener observaciones microscópicas adecuadas, debe comenzar con un objetivo de 10x y pasar a un objetivo de 40x una vez que encuentre la estructura, pero hacer esto puede destruir la estructura del organismo que se está estudiando y hacerlo desorientador. Por lo tanto, lo más recomendado es la técnica de cultivo sobre portaobjetos de vidrio, o microcultivos, es adecuada para el estudio de las setas, ya que permite la manipulación y observación de la estructura del hongo sin alterarla (Antonio, Mejía y Zanabria, 2018,pág. 30-31)

### 2.7.3. Caracterización microscópica (cinta adhesiva)

Según Estrada, G.; & Ramírez, C, (2019), dictaminan que las características morfológicas (macroscópicas) de hongos se observan mediante el microscopio, para posteriormente determinar aspectos de los organismos que crecen en los diferentes medios de cultivo (Papa Dextrosa Agar, Agar-Nutriente, Corn Meal Agar, etc.) y se determinan las características del cultivo: forma, elevación, margen, producción de pigmentos, textura, etc., También se describirán las características de las hifas: presencia o ausencia de tabiques, grosor, hifas en raqueta, hifas en espiral, además, manifiestan que las placas se realizan de la siguiente forma:

#### 2.7.3.1. Placa realizada con cinta adhesiva

En condiciones estériles se toma una porción de cinta adhesiva transparente con los dedos pulgar y anular (la parte pegante de la cinta dirigida hacia el cultivo del hongo, de donde se toma la muestra), se acerca la cinta al cultivo por la parte pegante y suavemente con el dedo índice se hace una pequeña presión sobre el cultivo, se retira y con la ayuda de la otra mano se extiende la cinta, se coloca sobre la placa que contiene una gota de lactoglicerol, se deja reposar por un minuto (mientras se tiñen las estructuras) y después se observa al microscopio, se visualiza con el lente de menor aumento y se va incrementando la capacidad de visualización gradualmente (Freire Haro, 2022).

Mientras que, para los hongos, de acuerdo a la identificación del laboratorio ya sea macroscópica y microscopio, se pueden dividir en dos grupos por tanto se indica a continuación (López Díaz ,2013):

#### Hongos filamentosos:

1. Son estructuras cilíndricas parecidas a tubos.
2. Pueden tener o no tabique o septos en cantidades variables.
3. Son septados y poseen pequeños poros
4. Su elemento primario es la hifa o filamento.
5. Según las formas que adopten las hifas pueden ser: vesiculosas, nodulares, pectinados, en raqueta, en candelabro fávico etc.
6. Al conjunto de hifas, ya unidas o entrelazadas se les denomina micelios
7. Poseen micelios: aéreos o reproductivos que alojan las esporas y micelios vegetativos o nutritivos por donde absorben el alimento.
8. Las colonias se desarrollan en el micelio aéreo o reproductivo.
9. Sus colonias según género y especie son de diferentes formas (algodonosas, pulverulentas, cerebriformes, crateriformes, etc.) o colores: rojo, carmelita, violeta, verde, amarillo y otros.

#### Hongos levaduriformes

1. Forma colonias suaves y cremosas de varios colores: blanco, crema, café o negro.
2. Son unicelulares, aisladas, redondas, ovaladas o con forma de gema.
3. Adquieren una forma alargada parecida a hifas y forman un pseudomicelio.
4. Su método de reproducción es la reproducción asexual mediante formación de yemas (López Díaz ,2013).

Esta es una técnica muy utilizada en micología porque se conserva la relación original de esporas y segmentos de hifas. Además, permite observar la estructura del hongo sin realizar ningún

cambio. Para desarrollar la técnica, se corta un trozo de cinta de 4 centímetros con un lado hacia afuera y se presionó con unas pinzas sobre la superficie de la colonia de hongos en estudio. Luego se colocó sobre un portaobjetos de vidrio en el que se había dejado caer lactofenol (Antonio, Mejía, Zanabria 2018, pág. 32).

## **2.8. Respiración del suelo**

La respiración del suelo es un indicador directo de la actividad metabólica de una población de microorganismos del suelo. Se determina detectando y cuantificando la cantidad de dióxido de carbono. Este gas se libera cuando las muestras de suelo seco se vuelven a humedecer (en el tamiz) en un recipiente hermético a temperatura ambiente durante 4 días. Cuanto mayor es la cantidad de dióxido de carbono liberado, esto indica que hay una gran cantidad de microorganismos activos en el suelo, que participan en la circulación de diversos nutrientes y la descomposición de sustancias orgánicas. El arreglo se puede practicar varias veces del análisis enzimático y cuantificación del tamaño de la biomasa únicamente; sin embargo, medir la respiración mediante la detección del dióxido de carbono proporciona una medida rápida, económica y completa de los niveles de actividad microbiana.

### **2.8.1. Relación respiración- función del suelo**

La respiración muestra el estado de la población microbiana en el suelo y puede informar sobre la capacidad de la población microbiana para aceptar y utilizar desechos orgánicos o cambiar, mineralizar y almacenar nutrientes para uso de plantas y otros organismos. Con el tiempo, se forma una buena estructura del suelo, lo que reduce la disponibilidad de nutrientes. (Fertilab 2016, pág.3).

### **2.8.2. Proceso de respiración del suelo**

Las propiedades físicas y químicas del suelo son muy importantes porque determinan la cantidad de microorganismos, la concentración de sustancias, catalizadores y nutrientes inorgánicos en el suelo. Los principales procesos mencionados son los relacionados con la respiración del suelo.

- Procesos químicos: los minerales de la Tierra se oxidan químicamente en mucho menor medida que otras fuentes de alta temperatura.
- Procesos Biológicos: Durante este proceso pasamos por la respiración microbiana, la respiración de la rizosfera (raíces) y la respiración animal.

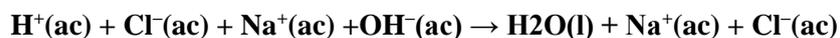
- Proceso físico: desgasificación del CO<sub>2</sub> del suelo y transporte del CO<sub>2</sub> a través del suelo hasta la superficie (Pazmiño Lizbeth, 2022, pág.7).

Vásquez, Macías, & Menjivar, (2013) Mencionan que, en el caso del suelo, la respiración se produce como la suma de las tasas respiratorias de los microorganismos que viven en el suelo consumiendo oxígeno y liberando bióxido de carbono, elementos que son indispensables para la germinación de semillas y el crecimiento de raíces. Por otro lado, el metabolismo del suelo está bien representado por la transformación de la materia orgánica en elementos y compuestos simples que son utilizados por los microorganismos del suelo y por las plantas superiores y constituyen la fertilidad del suelo.

## 2.9. Titulación

El análisis de titulación es una técnica de química analítica. Permite determinar la concentración de una sustancia desconocida (llamada "analito") que mide el volumen de un reactivo de concentración llamado valorante que se agrega gradualmente al analito hasta que reacciona por completo. La titulación se basa en reacciones químicas. Las sustancias involucradas reaccionan cuantitativamente. Es bien sabido que las reacciones ocurren cuando hay un cambio repentino en una propiedad, generalmente un color (Hanna instruments, 2022, pág. 2).

La titulación es el procedimiento utilizado para determinar el volumen de una solución que es necesario para reaccionar con una cierta cantidad de otra sustancia. La titulación se realiza con una disolución de ácido clorhídrico, HCl y con una disolución básica de hidróxido de sodio, NaOH. La concentración de la disolución de NaOH es un dato conocido, la concentración del HCl se desconoce y es el valor que se va a determinar. Los iones hidrógeno del HCl reaccionan con los iones hidróxido del NaOH en una razón uno a uno produciendo agua, donde la reacción completa es:



La titulación consiste en medir un volumen de base o de ácido de concentración desconocida y agregar la cantidad equivalente de ácido o base de concentración conocida. Esta última se llama solución valorada. En la reacción se cumple que el número de equivalentes-gramo del ácido es igual al número de equivalentes-gramo de la base, en el punto de equivalencia.

El punto final de la titulación se manifiesta mediante algún cambio físico, por ejemplo, el cambio de color de un reactivo auxiliar llamado indicador que debe agregarse al iniciar la titulación y cuyo cambio o viraje nos indica aproximadamente el punto de equivalencia de esta.

Un experimento de este método, es la titulación de una solución de ácido clorhídrico, HCl, con una solución básica de hidróxido de sodio, NaOH. Se determina la concentración de HCl desconocido mediante la solución de concentración de NaOH conocida. Los iones de hidrógeno HCl reaccionan con los iones hidróxido de NaOH formando agua en una proporción de uno a uno (Vernier, 2016,pág.1).

Cuando ocurre el proceso entre un ácido- base, el pH es bajo, a medida que se añade cambia de manera gradual el pH a un nivel gradual hasta el punto de equivalencias (Vernier, 2016, pág.1).

## **2.10. Métodos de respiración del suelo**

La respiración de suelo es un factor importante dentro del balance de carbono en el suelo ya que en este proceso existe la liberación de CO<sub>2</sub> capturado en el suelo (Chen, Xu, Fan, Yu y Ding, 2017 citado en Cruz et al. 2021, pág. 2).

El suelo libera CO<sub>2</sub> de varias formas por medio de la actividad microbiana y fúngica, las raíces de las plantas, la oxidación bioquímica de la materia orgánica enterrada en el suelo (Mátyás et al. 2020, pág. 11).

## **2.11. Métodos de la respiración basal según la metodología de Isermeyer**

Una muestra de suelo es ubicada en un sistema aeróbico cerrado, con humedad y temperatura constante y controlada, así el CO<sub>2</sub> que se libera en la muestra de suelo es absorbida en hidróxido de sodio (NaOH) para posteriormente añadir Cloruro de Bario (BaCl<sub>2</sub>) ser titulada con un ácido clorhídrico(HCl) (Castelán et al. 2022, pág. 59).

Según Font, Calero, Bernardo (2011) los fertilizantes orgánicos, humus de lombriz y fertilizante fosfórico aumenta la respiración basal de los suelos férricos, es decir, que el aumento de la respiración basal del suelo está relacionado al aumento de microorganismos en el mismo (pág. 4).

## **2.12. Método respiración por sustrato (sir)**

Se utiliza una muestra de suelo la cual es secada y bien granulada, además, en ocasiones se agrega glucosa para acelerar a liberación de  $CO_2$ , si bien es conocido como uno de los métodos más sencillos, es necesario encapsular la muestra de suelo para poder enviar un flujo de aire continuo en la muestra de suelo (Krebs 2003, pág. 36).

### **2.13. Plaguicidas**

El Código Internacional de Conducta Sobre la Distribución y Uso de Plaguicidas de la Food and Agriculture Organization (FAO, 2011) de las Naciones Unidas, establece que un plaguicida *«es la sustancia o mezcla de ellas, destinada a prevenir, destruir o controlar plagas, incluyendo los vectores de enfermedad humana o animal; las especies no deseadas de plantas o animales que ocasionan un daño duradero u otras que interfieren con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte y comercialización de alimentos; los artículos agrícolas de consumo, la madera y sus productos, el forraje para animales o los productos que pueden administrárseles para el control de insectos, arácnidos u otras plagas corporales»*

Es cualquier sustancia o mezclas de sustancias capaces de reducir y controlar algún ente considerado plaga para cultivos e insectos vectores, comúnmente son elaborados con toxinas las cuales no pueden ser aplicadas constantemente debido a la agresividad, esto podría causar varios problemas ambientales (Castillo, Dueñas 2023, pág. 15).

Los plaguicidas si bien están formados por sustancias tóxicas y nocivas para algunos organismos vivos, también están compuestos de agroquímicos, los cuales son fuente de carbono y nitrógeno que se degradan con la actividad de los microorganismos, aun así, la entrada continua de esos compuestos puede afectar la actividad biológica en el ecosistema (Bajaña 2023, pág. 1).

#### **2.13.1. Uso de los plaguicidas en el mundo**

Desde los años 80 a los 90, se realizaron actividades, estudios e investigaciones para conocer los problemas que ocasionaba el uso de los plaguicidas en la salud y en el ambiente en todo el mundo, esto se enfocó más en los países del tercer mundo (Santillán, 2017).

Desde los años cincuenta se han utilizado los plaguicidas sintéticos en todo el mundo para la agricultura. Y a medida que la tecnología ha ido avanzando se ha intensificado el uso de estos, algunos de estos plaguicidas tienen efectos inmediatos, otros en cambio pueden tardar mucho

tiempo en que se presenten sus efectos, todo esto dependiendo si las personas están expuestas con mayor frecuencia a estos productos químicos (Santillán, 2017).

En los países en desarrollo se dan complicaciones por intoxicaciones inmediatas, al utilizar productos con toxicidad aguda, en cambio los productos que son más tóxicos estos producen daños más graves en los seres humanos como cáncer, problemas en el desarrollo del crecimiento de los niños (Santillán, 2017).

#### *2.13.1.1. Uso de los plaguicidas en el Ecuador*

La agricultura desempeña un papel crucial en la economía del Ecuador, ya que mediante esta actividad en el país se pueden obtener varias ventajas como por ejemplo se puede generar empleo, y también se pueden exportar los productos tradicionales a otros países (Arias, 2013).

Según el INEC, (2015) en el país se siembran 2.595.075 ha., aproximadamente en el 45.89% de estas hectáreas (1.191.131), se aplican plaguicidas. En la provincia de Manabí, se realizó una campaña en el 2010, en la que se invirtieron \$36.000.000 de dólares para conocer el manejo fitosanitario de cerca de 152.000 ha., en diferentes cultivos de ciclo corto, estos representan el 18% de los costos de producción.

#### *2.13.2. Efecto en la salud de los plaguicidas*

Las poblaciones que se encuentran más vulnerables y expuestas a estar contaminadas con estas sustancias son las que se encuentran más cercanas a las zonas agrícolas en las que utilizan plaguicidas, las mismas que con la ayuda del clima se dispersan en el aire, agua y suelo contaminándolos, y a su vez también son absorbidas por especies cercanas a esas áreas.

Los trabajadores agrícolas están sometidos a especiales riesgos asociados a la inhalación y contacto a través de la piel durante la preparación y aplicación de plaguicidas a los cultivos. No obstante, para la mayoría de la población, un vehículo importante es la ingestión de alimentos contaminados por plaguicidas.

La degradación de la calidad del agua por la escorrentía de plaguicidas tiene efectos principales en la salud humana que surgen desde la mezcla y aplicación de plaguicidas hasta el consumo de alimento con residuos e ingerir agua con presencia de residuos.

Muchos organismos encargados de la protección de la salud y el medio ambiente han establecido valores de "ingesta diaria admisible" (IDA), que indican la ingestión máxima diaria admisible durante la vida de una persona sin riesgo apreciable para su salud. Por ejemplo, sobre fenoles sustituidos, se comprobó que la tetraclorohidroquinona, metabolito tóxico del biocida pentaclorofeno, producía en el "DNA daños significativos y dependientes de la dosis" (Santillán, 2017).

#### **2.14. Impacto ambiental de los plaguicidas en el suelo**

La base del impacto ambiental que se produce en el suelo son los residuos de productos químicos agrícolas, que o bien resultan de un exceso de agregados tipo fertilizante que se depositan en el suelo, lo que altera el equilibrio de nutrientes, por otro lado, también causa un impacto significativo medioambiental en la contaminación en el agua debido al uso de químicos agrícolas, fertilizantes y lodos, prácticas de gasificación y deficiencias en los sistemas agrícolas. Entre los efectos identificados más importantes de los pesticidas está la reducción de la actividad de las enzimas del suelo, por lo que estas reacciones que ocurren naturalmente se interrumpen y alteran, afectando en gran medida la microbiota y la actividad microbiana (Castro, 2023: pág. 58).

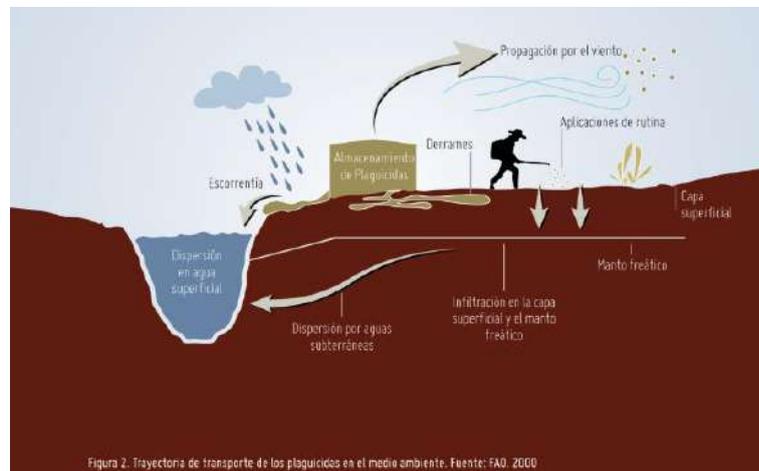
Los pesticidas se consideran contaminantes que tienen un impacto significativo en el suelo porque son sustancias formadas por compuestos tóxicos que han sido introducidos deliberadamente en el medio ambiente para controlar plagas y enfermedades de las plantas. Pueden acumularse en el suelo o filtrarse al agua subterránea o evaporarse y re depositarse en el suelo, afectando la biodiversidad de este recurso natural debido a su baja selectividad y participación en la cadena alimentaria (Morante , 2022: pág.8).

Estos productos poseen un impacto ambiental en el ecosistema del suelo afectando directamente a los microorganismos y su actividad denotando como consecuencia modificaciones drásticas en los procesos biológicos los mismo que son vitales para la fertilidad y producción de productos agrícolas (Izquierdo, 2017: pág.10).

#### **2.15. Efecto de los plaguicidas en la respiración del suelo**

El usar en exceso los plaguicidas, trae un sinnúmero de problemas como: la erosión del suelo, la pérdida de la biodiversidad, el agotamiento de los agroecosistemas y que se vuelvan vulnerables a ciertas plagas, todo esto se da, debido a la mala aplicación directa en los cultivos agrícolas, a los derrames accidentales en el suelo (Espinoza, 2003). Al contaminar el agua, se afecta diversos sistemas biológicos, y al tratar de darle un saneamiento adecuado este puede tomar mucho tiempo

y correr el riesgo de que exista una bioacumulación. Al momento de que los plaguicidas entran en contacto con el agua de tierras agrícolas, incluyen factores como: la volatilización del compuesto y las transformaciones sufridas por procesos físicos, químicos y fotoquímicos (Santillán, 2017).



**Ilustración 2-4:** Trayectoria de transporte de los plaguicidas en el Medio Ambiente.

**Fuente:** (FAO, 2000 p,5).

La dispersión de plaguicidas en forma líquida o en polvo para exterminar las plagas es hoy en día una práctica aceptada por muchos países a nivel global. Los insecticidas suelen dispersarse en el aire para combatir los insectos voladores, aunque en ciertos casos los ingredientes activos de dichos productos sólo actúan después de depositarse en objetos fijos, como la vegetación, donde pueden entrar en contacto con los insectos. En estos casos el aire se contamina deliberadamente con uno o varios productos cuyas propiedades nocivas se conocen y que también pueden ser tóxicos para el hombre contaminando toda la biota del suelo desgastando aquellos nutrientes positivos para la agricultura (Puerto, Suárez y Palacio, 2014: pág.380).

También es importante evaluar el grado de contaminación en la respiración del suelo provocado por la presencia de pesticidas, ya que pueden ser absorbidos por los alimentos destinados al consumo final, pudiendo algunos durar entre 5 y 30 años, como es el caso del DDT. Por ejemplo, en el ganado vacuno, los residuos de pesticidas se transfieren del suelo al alimento y finalmente a los animales, acumulándose en la grasa y aumentando así la concentración de residuos persistentes en la carne y la leche (Meliza et al. 2023: pág.33).

Cuando se aplica un pesticida a los cultivos, sólo el 1% de la cantidad total alcanza el "objetivo" y alrededor del 25% permanece en las hojas, el 30% en el suelo y el 44% restante se libera

directamente a la atmósfera o a los cuerpos de agua. escurriendo y remojando, provocando una contaminación corrosiva dependiendo de la toxicidad de cada pesticida aplicado en el cultivo durante toda su etapa fenológica (Avila, 2020: pág.22)

## 2.16. Tipos de plaguicidas utilizados en el cultivo de papa

Los plaguicidas son productos químicos utilizados para controlar plagas (insectos, ácaros, hongos, bacterias, virus, nematodos, caracoles, roedores y malezas) que afectan los cultivos. En muchos casos, el uso de pesticidas no es necesario y puede ser sustituido por otros métodos de control basados en métodos de manejo integrado de plagas. En la agricultura tradicional, desempeñan un papel clave para lograr y mantener una alta productividad y rentabilidad. Sin embargo, en los países en desarrollo con pequeños agricultores, el uso de pesticidas (Villacrés, 2022:pág.21).



**Ilustración 2-5.** Javari

**Fuente:** (Corterva, 2018: pág.1-3).

Es un plaguicida que controla la lancha del papa conocido como el tizón tardío (*Phytophthora infestans*). Combina los mecanismos de acción del fluatsinam (un fungicida de contacto multifuncional) y el dimetomorf (un fungicida sistémico que destruye la pared celular del patógeno). Su doble mecanismo de acción lo hace muy eficaz contra *Phytophthora infestans* y es eficaz durante todo el ciclo fúngico: desde la formación de esporas hasta causar grandes daños a la salud y al medio ambiente. (Lucero, 2018: pág.12).



**Ilustración 2-6.** Carbofuran

**Fuente:** (Corterva, 2018: ppág.1-3).

Sirve para controlar al gusano blanco (*Premnotrypes vorax*) y plagas del follaje. Constituyen 47% y el 43% son muy tóxicos y su uso está limitado en los países del norte debido a su alta toxicidad y fácil absorción. La exposición a estos pesticidas se ha relacionado con enfermedades genéticas y reproductivas, varios tipos de cáncer, erupciones cutáneas y otros problemas de la piel y enfermedades neurológicas. En el caso de Carchi, los investigadores especulan que la alta tasa de suicidio también puede estar relacionada con trastornos del estado de ánimo provocados por la exposición a pesticidas (Yanggen, Crissman y Espinosa, 2022: pág.12).



**Ilustración 2-7.** Fontelis

**Fuente:** (Corterva, 2018: pág.1-3).

Es fungicida que permite controlar la costa negra (*Rhizoctonia solani*) de la papa, genera la formación de tubérculos deformes con protuberancias y costras negras que disminuyen significativamente su calidad. afectan los estolones o brotes del tubérculo causando manchas y chancros de color café - rojizo, y pueden causar la muerte de los puntos de crecimiento (Coterva, 2018: pág.3).



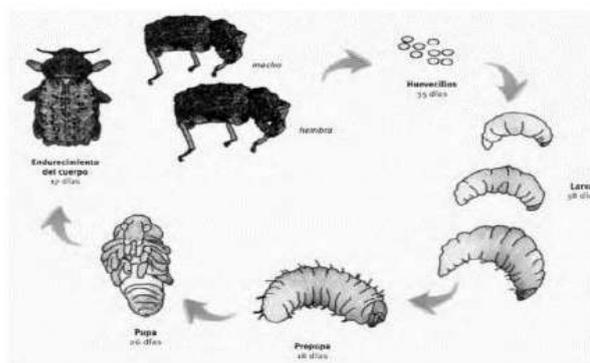
**Ilustración 2-8.** Pirecris

**Fuente:** (Corterva, 2018: ppág.1-3)

Es insecticida que combate la mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*), formulado con base en el ingrediente activo sulfoxaflor, pertenece a la nueva familia de insecticidas denominada sulfoxaminas. Los insectos tratados con este producto muestran síntomas de excitación (temblores) seguidos de parálisis y finalmente mueren poco tiempo después (Coterva, 2018: pág.1).

## 2.17. Plagas difíciles de controlar en cultivo de papa en zonas altas

### 2.17.1. “Gusano blanco” *Premnotrypes vorax*



**Ilustración 2-9.** Ciclo biológico del gusano blanco (*Premnotrypes vorax*).

**Fuente:** (Huarca, 2012: pág.6).

El gusano blanco es una plaga que se propaga por toda Sudamérica desde los 2.500 a los 4.700 metros sobre el nivel del mar. Un gorgojo adulto no puede volar, pero camina rápidamente, come hojas, pero el daño causado hasta este momento no es significativo. La etapa larvaria es la más dañina, emergen de los huevos y, hundiéndose en la madriguera, permanecen cerca del lugar de formación de los tubérculos, donde crean agujeros profundos e irregulares. Solo se reproduce

como adulto y no puede hacerlo como larva, por lo que es importante buscar adultos en las plantas. Las hembras ponen un promedio de 3-21 huevos cada 3-5 días, por lo que pueden liberar un total de aproximadamente 260 huevos en sus 280 días de vida (Peña , 2018: pág.8).

Es considerado como una de las plagas más importantes en Ecuador debido al costo económico que conlleva su control, esta plaga se encuentra principalmente en las zonas andinas, dura entre 134 y 280 días y los daños los provocan los adultos comiendo las hojas del tercio medio e inferior de la planta y las larvas atacando los tubérculos, lo que puede provocar la pérdida total de la cosecha (López et al. 2017: pág.93).

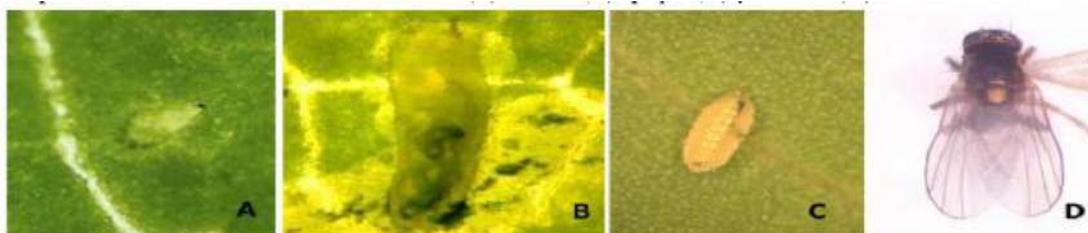
#### 2.17.1.1. *Comportamiento*

- El gusano blanco (*Premnotrypes vorax*) aparece entre 45 y 45 días después de la preparación del suelo y entre 30 y 90 días después de la cosecha.
- Un individuo adulto se desplaza de noche por el campo en busca de alimento, y durante el día se esconde debajo de los arbustos, la hojarasca, los lugares húmedos y la base de las plantas.
- El macho busca a su pareja por la noche, y la hembra reconoce la guarida debajo de rastrojos (Constante 2023: pág.14).

#### 2.17.1.2. *Daño*

La hembra pone sus huevos alrededor de los tallos y lechos de las plantas. Cuando las larvas eclosionan, se adentran en el suelo en busca de alimento y raíces, donde excavan y forman galerías. Cuando la larva ha completado su ciclo sale del tubérculo y duerme en el suelo, luego completa su desarrollo bajo tierra, el adulto crece en la superficie del suelo, en suelo seco puede estar sin alimento hasta por 3 meses, para un adulto En las noches recorre los campos buscando alimento, por ejemplo las hojas de la planta bordean causando daños en forma de media luna de 3-4 mm, también hace pequeños agujeros alrededor del tallo y si no tiene otra fuente (Constante 2023: pág.14).

### 2.17.2. “Minador de hoja” *Liriomyza* sp



**Ilustración 2-10:** Etapas del Minador de hoja Huevo (A), larva (B), pupa (C) y adulto (D)

**Fuente:** (Mujica et al. 2016: pág.127).

Los síntomas de esta plaga son de enrollamiento de las hojas, coloración púrpura o amarillamiento de las hojas, formación de tubérculos aéreos y senescencia temprana, se han observado en zonas paperas de la provincia ecuatoriana del Carchi desde el 2013. Los agricultores estiman que este problema produjo pérdidas en rendimiento de más del 50 % en la var. Superchola. De acuerdo a la literatura, estos síntomas podrían corresponder a punta morada de la papa causada por fitoplasma y reportada en varios países (Villasagua , 2023: pág.9).

#### 2.17.2.1. Ciclo de vida

Hay dos etapas en su ciclo de vida durante las cuales causa daños directos al cultivo: primero, cuando la hembra pone un huevo en la superficie de la hoja, del cual emerge la larva al cabo de 3-6 días, dependiendo de la estación y la temperatura. En la segunda etapa, las larvas se alimentan del interior de las hojas con ganchos cefalofaríngeos característicos de las larvas dípteras durante unos 10-13 días, cuando se forman galerías en el interior de las hojas. Estos daños son notables para la planta porque reducen su capacidad fotosintética, y en el caso de los crisantemos, para su exportación se deben retirar hojas con "minas" o galerías hechas por orugas mineras y, dependiendo del país de destino, pautas estrictas para su extracción (Dávalos , 2021: pág.12).

#### 2.17.2.2. Daños

Las larvas crean galerías excavadas que reducen la capacidad de las hojas para realizar la fotosíntesis, provocando la descomposición de las hojas y permitiendo la entrada de patógenos vegetales. Estas orugas provocan hoyos permanentes lineales o irregulares en las hojas verdes o blancas. Si la población de estos insectos es demasiado grande, pueden desestabilizar hojas enteras y dar la impresión de haber sido quemadas por el fuego. Además, provocan el marchitamiento y la caída temprana de las hojas (Dueñas, 2022: pág.11).

### 2.17.3. “Pulgón de la papa” (*Aulacorthum solani*)



**Ilustración 2-11.** *Aulacorthum solani*

**Fuente:** (Robledo, 2019: pág.132).

Es una especie altamente polífaga, capaz de causar daño directo al alimentarse de la savia obtenida a través de su aparato bucal chupador de aguijón. Además, la inyección de saliva venenosa provoca decoloración y deformación de las hojas (Tacaliti et al. 2020:pág.16).

#### 2.17.3.1. *Ciclo de vida*

El ciclo de vida de los pulgones es complejo; los adultos pueden tener o no alas y venir en una amplia variedad de colores. Si la reproducción es asexual, los jóvenes pulgones nacen como ninfas desarrolladas, que inmediatamente comienzan a alimentarse de la savia de la planta y crecen rápidamente. Si la reproducción es sexual, los pulgones ponen huevos que pasan el invierno. La reproducción en invernaderos también se produce mediante partenogénesis, donde las hembras vivas no fertilizadas continúan produciendo nuevas generaciones de hembras. Los pulgones mudan cuatro veces antes de convertirse en adultos; cuando pierden su piel blanca, revelan su existencia en la cosecha. Las hembras aladas son de color amarillo verdoso con cabeza marrón y tórax oscuro, vientre oscuro con franjas horizontales de claras a oscuras. Forma del cuerpo similar a la de las hembras sin alas, pero de 2,0 a 3,0 mm de largo (Ramírez, 2022: pág.16).

#### 2.17.3.2. *Daño*

También conocidos como piojos de las verduras, pueden atacar cualquier verdura. Se alimentan perforando las hojas y chupando el jugo. Como resultado, las hojas se curvan y encogen; Continúa el marchitamiento y decoloración de las hojas. El daño ocurre con mayor frecuencia en las hojas jóvenes en el centro de la planta. Su efecto reduce la calidad y cantidad de frutos. Las plantas

gravemente infectadas se vuelven marrones y mueren. Los pulgones se propagan rápidamente de un campo a otro y propagan varias enfermedades virales (Chonillo, 2021: pág.12).

### **2.18. Degradación del suelo por uso intensivo de plaguicidas**

La desnitrificación es una consecuencia del uso excesivo de productos químicos en el suelo, que provoca la conversión de nitratos y nitritos en óxidos de nitrógeno, lo que supone la formación de un gas muy peligroso en la atmósfera, y es que es un gas inerte. El efecto invernadero, la amonificación, las reacciones redox y la metanogénesis contaminan el medio ambiente y la salud humana (Cuesta, 2023: ppág.7-8).

El transporte de productos contaminantes desde el suelo es realizado por todos los que nos dedicamos a la agricultura y no consideramos las consecuencias que provocan los sistemas abióticos y bióticos. Las moléculas de pesticidas interactúan y cambian el comportamiento de intercambio catiónico con el pH del suelo porque las partículas del suelo, especialmente la arcilla y la materia orgánica, colocan otras moléculas allí (Torri , 2015: ppág.3-4).

También se debe tener en cuenta que la degradación se produce por la acumulación de metales pesados en suelos agrícolas que provienen de agroquímicos que contienen componentes que cambian cuando entran en contacto con el suelo, luego cambian y son absorbidos por las plantas, y esto se crea por absorción de las raíces. presencia de estos factores nocivos y nocivos , (Izquierdo, 2017: pág.8)

Muchos plaguicidas se disipan rápidamente en los suelos. Se trata de un proceso de mineralización y el resultado es la conversión del plaguicida en compuestos más simples, como  $H_2O$ ,  $CO_2$ ,  $NH_3$  Si bien parte de este proceso es resultado de reacciones químicas, por ejemplo, hidrólisis y fotólisis, el principal instrumento de mineralización es el metabolismo y catabolismo microbiológico. El microbiota del suelo utiliza los plaguicidas como fuente de carbono y otros nutrientes. Algunos productos químicos, por ejemplo, el (2,4-D) se descomponen muy rápidamente en el suelo, mientras que otros resisten durante más tiempo (2,4,5-T). Algunos productos químicos son muy persistentes y tardan mucho tiempo en descomponerse (atrazina)" (Ríos, 2018)

### **2.19. Clasificación de los plaguicidas**

Los plaguicidas se pueden clasificar según:

- a. El tipo de organismo que se desea controlar: Insecticidas, acaricidas, fungicidas, herbicidas, nematocidas, molusquicidas, rodenticidas, avicidas.
- b. Grupo químico del principio activo: Compuesto organofosforados, compuestos carbamatos, compuesto organoclorados, piretroides, derivados de la cumarina, derivados del cloronitrofenol, compuestos organomercuriales, entre otros.
- c. Su persistencia al medio ambiente: Persistentes, poco persistentes, no persistentes.
- d. Su toxicidad aguda (O.M.S.): Esta se basa principalmente en la toxicidad por vía oral en ratas y ratones. Usualmente la dosis se registra como el valorDL50 (Dosis Letal Media) que es la dosis requerida para matar 50% de la población de animales de prueba y se expresa en términos de mg/kg del peso del cuerpo del animal.

**Tabla 2-2.** Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad aguda expresada en DL50

Clase	Por vía oral		Por vía dérmica	
	Sólidos	Líquidos	Sólidos	Líquidos
Ia Sumamente tóxico	5 o menos	20 o menos	10 o menos	40 o menos
Ib Muy tóxico	5-50	20-200	10-100	40-400
II Moderadamente tóxico	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III Poco tóxico	Más de 500	Más de 2000	Más de 1000	Más de 4000

Fuente: Ríos, 2018

## CAPITULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. Características del lugar

La comunidad de Utuñağ tiene un alto impacto sobre el recurso suelo en las zonas de producción en la utilización de insumos químicos con una intensidad media con una persistencia temporal las mismas que tienen posibles afectaciones sobre el recurso suelo en sus propiedades físicas, químicas (GADPenipe 2020, pág. 317).

##### 3.1.1. Ubicación geográfica del área de estudio

El trabajo se realizó en la comunidad Utuñağ situada en la Parroquia el Altar perteneciente al Cantón Penipe en la Provincia de Chimborazo, tiene una altitud de 3152 m.s.n.m. Coordenadas WGS84 Z17S -UTM: X (Este) 9828549 Y(Norte) 0778342 Z (GADPenipe 2020, pág. 317).



**Ilustración 3-1:** Área de estudio

**Fuente:** SAS.PLANET (GADPenipe 2020, pág. 317).

**Realizado por:** Lara, A, 2024

### **3.1.2. Localización del laboratorio**

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología y de Suelos de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), ubicado en la Panamericana Sur km 1/2, Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo, Ecuador (ESPOCH, 2023).

## **3.2. Materiales y equipos para el Laboratorio de Fitopatología**

### **3.2.1. Materiales de Campo**

- Etiquetas adhesivas
- Fundas Ziploc
- Pala
- Balde
- Azadón
- Guantes

#### **3.2.1.1. Equipos de campo**

- GPS
- Cámara fotográfica

#### **3.2.1.2. Materiales de laboratorio**

- Cajas Petri (90 mm Ø)
- Parafilm
- Pipetas
- Tubos de ensayo (10 mL)
- Micropipeta (1000 µL)
- Gradilla
- Vasos de precipitación (50 mL y 100 mL)
- Matraz Erlenmeyer (250 mL)
- Puntas de micropipetas (1000 µL)
- Marcador de vidrio
- Papel aluminio

- Caja de puntas de micropipetas (1000 µL)
- Placas porta y cubre objetos

#### *3.2.1.3. Equipos de laboratorio*

- Autoclave (BIOBASE BKQ-B100II)
- Cámara de flujo laminar vertical (BIOBASE BSC-1500IIA2-X)
- Incubadora (MEMMERT UN 30)
- Mechero de Bunsen
- Estereoscopio (COMECTA – IVYMEN 5313309)
- Cámara fotográfica (CANNON)
- Agitador orbital (COMENTA-IVYMEN 5312096)
- Balanza de precisión (RADWAG AS220.R2)
- Contador de Colonias

#### *3.2.1.4. Reactivos e insumos*

- NaCl
- Agua destilada estéril
- Papa Dextrose Agar al 3.9% (PDA Difco™)
- Agar-Nutritivo al 2.8% (Difco™)
- Alcohol antiséptico
- Lactoglicerol

#### *3.2.1.5. Materiales y Equipo de oficina*

- Computadora
- Hojas
- Lápiz
- Esfero
- Libreta
- Marcador de vidrio

### **3.2.2. *Materiales y equipos para el Laboratorio de Suelos***

#### **3.2.2.1. *Materiales de laboratorio***

- Parafilm
- Pipetas
- Frascos de vidrio transparentes con tapa de 100 mL
- Frascos de plásticos pequeños
- Vasos de precipitación (50 mL y 100 mL)
- Probetas
- Buretas
- Embudo
- Matraz aforado

#### **3.2.2.2. *Equipos de laboratorio***

- Agitador magnético (STABLE TEMP 03407-00)
- Incubadora (MEMMERT UN 30)
- Balanza de precisión (RADWAG AS220.R2)

#### **3.2.2.3. *Reactivos e insumos***

- Hidróxido de sodio en lentejuelas(gr)
- Cloruro de bario (gr)
- Ácido clorhídrico concentrado (ml)
- Fenolftaleina (gr)
- Alcohol etílico 95-96% (ml)

### **3.3. *Metodología***

#### **3.3.1. *Determinación de los plaguicidas en función de la aplicación según el ciclo fenológico***

Para determinar la acción de los plaguicidas se realizó en función de la aplicación según el ciclo fenológico hasta llegar a la floración, plaguicida (nombre comercial e ingrediente activo) dosis y frecuencia de aplicación.

Para el conteo de microorganismos y la respiración del suelo se tomaron cinco muestras compuestas de un suelo no intervenido a 10 y 20 cm de profundidad con la ayuda de una pala, hasta obtener 1 kg de suelo. Los muestreos iniciales se hicieron antes de la aplicación de los plaguicidas y 2 días después de la aplicación de cada producto; las muestras fueron conservadas en bolsas plásticas y llevadas al Laboratorio de Fitopatología y de Suelos de la Facultad de Recursos Naturales en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (Freire 2022).

La abundancia de los microorganismos fue medida por la técnica de dilución seriada (UFC/g suelo) en medios específicos para cada grupo microbiano, así, los hongos en papa dextrosa-agar y nutriente agar para bacterias (Freire 2022).

Para la respiración del suelo se utilizó el método Basal que se basa en la incubación de las muestras en condiciones óptimas (24 horas a 25 °C ) en vasos herméticamente cerrados, donde el  $CO_2$  producido está siendo absorbido por el hidróxido de sodio y para calcular la evolución de este  $CO_2$  en la muestra se realiza una titulación de ácido clorhídrico (Freire 2022).



**Ilustración 3-2:** Proceso del Método Basal.

Realizado por: Lara, A, 2023.

**Tabla 3-1:** Fungicidas y dosis aplicados en la investigación

MUESTRA	FECHA	TIPO DE FUNGICIDA	ETIQUETA	DOSIS
M1	0 días	0	0	0
M2	30 días	Bienzeb	Azul	69 gramos
M3	45 días	Bienzeb	Azul	69 gramos
M4	60 días	Donner	Azul	92 gramos
M5	70 días	0	0	0

Realizado por: Lara, A, 2023

### 3.3.2. *Obtención de las muestras de suelos de los tres cuadrantes del lugar de investigación*

Para la toma de muestras se utilizó el recorrido en zigzag, el cuál es un método sencillo, y apropiado el que consiste en recolectar las submuestras en forma de Z (Mendoza y Espinoza 2017).

Con la ayuda de una pala en V se tomó submuestras con una profundidad de 20 cm de suelo no intervenido y se colocó en un balde para posteriormente colocar la muestra en una funda ziploc y se lo coloca en un cooler para que se mantenga fresco y transportarlo al laboratorio, se realizó el mismo procedimiento en los tres cuadrantes de  $6 \times 5 \text{ m}^2$ .



**Ilustración 3-3:** Materiales para la toma de muestras del suelo.

**Realizado por:** Lara, A, 2023.

Para determinar la acción de los plaguicidas se realizará en función a la aplicación según el ciclo fenológico hasta llegar a la floración, plaguicida (nombre comercial e ingrediente activo) dosis y frecuencias de aplicación.

### 3.3.3. *Aislamiento e identificación del microbiota del suelo*

El aislamiento se realizó mediante la técnica de diluciones seriadas y siembra en placa mediante esparcimiento de la muestra de suelo para lo cual se detalla los procedimientos y materiales a continuación (Freire 2022)

#### 3.3.3.1. *Solución salina*

La solución salina al 0,85 % fue preparada utilizando 2,13 g de cloruro de sodio en 250 mL de agua destilada esterilizando en autoclave (BIOBASE BKQ-B100II) a 120 °C durante 60 min aproximadamente, posteriormente se adicionaron cada uno de los suelos en una cantidad de 27,77 g en cada uno de los 250 mL de solución salina, posteriormente se llevaron a agitación en un

agitador orbital (COMENTA-IVYMEN 5312096) a una temperatura de 25 °C, a 160 rpm por 24 horas (Freire 2022).



**Ilustración 3-4:** Agitador orbital.

**Realizado por:** Lara, A, 2023.

### *3.3.3.2. Blancos de dilución*

Los blancos de dilución fueron preparados colocando 9 mL de agua destilada estéril en tubos de ensayo, posteriormente se añadió 1 mL de la solución madre para obtener una dilución de 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> y 10<sup>-3</sup>.

### *3.3.3.3. Siembra de diluciones*

Se sembraron cada una de las diluciones preparadas de los suelos de los diferentes cuadrantes en medio de cultivo AN y PDA + Chloramphenicol, se sembraron 100 µL de la dilución y se expandió la misma con una espátula drigalsky, luego se sellaron las cajas con papel parafilm, se etiquetaron, posteriormente se incubaron a 28 °C en condiciones de oscuridad por 8 días. El crecimiento de los hongos se monitoreo cada 24 h.



**Ilustración 3-5:** Siembra de diluciones

**Realizado por:** Lara, A, 2023.

#### *3.3.3.4. Contador de Colonias*

Se llevaron cada uno de los cultivos de las distintas muestras de las tres diluciones obtenidas y con un marcador se señala cada colonia.

#### *3.3.3.5. Caracterización cultural*

La caracterización cultural permite evaluar mediante la observación características externas de las colonias es así que se evaluaron los criterios expuestos por Ramos, (2014) con algunas características especiales. Se evaluó la forma (irregular, rizoide, filamentosa, circular, puntiforme), el borde (rizado, filamentoso, crenado, ondulado, entero), la elevación (efusa, plana, rizada, convexa, umbonada), la superficie (rugosa, concéntrica, radial, ondulada, lisa) y el color tanto del anverso como del reverso. El color se evaluó mediante la escala de Pantone (Pantone, 2012).

#### *3.3.3.6. Caracterización morfológica*

Se realizó la identificación de las características morfológicas de las bacterias y hongos encontrados en la investigación.

#### *3.3.3.7. Placas con cinta adhesiva*

Las placas con cinta adhesiva se realizaron siguiendo la metodología de Estrada (2019), con algunas características:

En la placa cubreobjetos se añadió una gota de lactoglicerol, luego se tomó una porción de cinta adhesiva de los extremos, después se acercó la cinta hacia el cultivo con la parte pegante dirigida hacia el hongo, luego con ayuda de un lápiz se presionó suavemente sobre el cultivo posterior a eso se retiró la cinta y se pegó en la placa portaobjetos se esperó unos segundos para luego colocar la placa en el microscopio.

#### *3.3.3.8. Análisis de datos*

Para la caracterización cultural se observó las características físicas de los microorganismos fúngicos se comparó con bibliografía relacionada para determinar las similitudes con microorganismos previamente ya encontrados. Para la caracterización morfológica se realizó extracción de los micelios con una gota de lactoglicerol en las placas con cinta adhesiva para determinar el género al cual los microorganismos encontrados pertenecen clasificándolos por géneros. Se realizó una estadística descriptiva en base los índices de Friedman utilizando el programa InfoStat.

#### **3.3.4. Aislamiento e identificación de la respiración del suelo**

##### *3.3.4.1. Preparación de la muestra*

Una vez tamizadas las muestras frescas de los diferentes cuadrantes estudiados se precedió a:

- A. Limpieza de la muestra: Se realizó la eliminación de impurezas como raíces, tallos, piedras a cada muestra antes de realizar el pesado correspondiente que influirá en los resultados.
- B. Sellado de la muestra: Una vez colocados los reactivos, pesada la muestra y colocadas en los respectivos envases se procede a sellar con Parafilm y sus tapas correspondientes para cada envase.
- C. Incubación de muestras: Las muestras son incubadas a 25°C

##### **3.3.4.2. Método Basal**

Se utilizó 20 g de suelo fresco a capacidad de campo y se colocó en un vaso pequeño de plástico con orificios, este fue introducido en un frasco de vidrio (boca ancha) con 20 ml de (NaOH 0,05

m). Finalmente, el frasco se selló herméticamente y fue llevado a la incubadora a 25 °C por un periodo de uno y siete días respectivamente.

Para el desarrollo del método Basal se realizaron 3 blancos por cada muestra de suelo para día uno y para día siete.

Transcurrido este tiempo se procedió a realizar la titulación, en donde se añadió 2 ml de cloruro de bario ( $BaCl_2$  0,5 M) esta mezcla se valoró con ácido clorhídrico (HCL 0,1 M)

### 3.3.5. *Cálculo de los resultados*

$$MgCO_2g^{-1}h^{-1} = \left( C - S * 2.2 * \frac{100}{SW * \%dm} \right)$$

Dónde:

C = Volumen gastado de HCl en el blanco

S = Volumen gastado de HCl en la muestra

2.2 = Factor de conversión (1ml de 0.1M HCl corresponde a 2,2 mg de  $CO_2$ )

SW = Peso inicial en gramos (g).

100.  $\%^{-1}$ ) = Factor de materia seca del suelo.

### 3.3.6. *Análisis estadístico*

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante la prueba de Tukey Subconjuntos homogéneos ( $p < 0.05$ ) para comparar las medidas y ver si existen estadísticas significativas utilizando el programa Minitab.

## CAPITULO IV

### 4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Resultados y discusión del objetivo 1: Diagnosticar los plaguicidas que afectan el microbiota y la respiración del suelo.

El presente trabajo de investigación presentó los siguientes resultados que detallamos a continuación en la (Tabla 4-1), donde se muestra los fungicidas más comunes utilizados en el cultivo de papa, desde la siembra hasta la floración, los mismos que se aplicaron a los 30, 45, 60 días respectivamente, así mismo, se describe el principio activo.

**Tabla 4-1:** Cuadro resumen de los fungicidas utilizados

MUESTRA	FECHA	TIPO DE FUNGICIDA	PRINCIPIO ACTIVO
M1	0 días	-	-
M2	30 días	Bienzeb	Mancozeb 80% (800 gr/kg IA)
M3	45 días	Bienzeb	Mancozeb 80% (800 gr/kg IA)
M4	60 días	Donner	Cymoxanil 80 KG +Mancozeb 640 /G KG
M5	70 días	-	-

**Realizado por:** Lara A, 2024

**Fuente:** (Tridente 2019; Rainbow Agro Latam 2023; CHEMIE 2019; Gonzalez 2023; AGROTA 2019)

El suelo sin intervención es nuestro testigo, a los 30 días se realizó la primera aplicación (M1) el fungicida aplicado de Bienzeb, cuyo principio activo es el Mancozeb, es un fungicida de contacto que actúa preventivamente, alterando las funciones de la membrana celular, inhibiendo la respiración de los hongos (CASAFE 2009).

A los 45 días se realizó la segunda aplicación (M2) se volvió aplicar Bienzeb y a los 60 días se realizó la tercera aplicación (M3), Donner dentro de su principio activo se encuentra al Cymoxanil 80 KG +Mancozeb 640 G/ KG , inhibe la enzima succinato e hidrogenasa, que afecta la respiración de los hongos, sumado a la acción multisitio del Mancozeb, que afecta la respiración mitocondrial, inhibiendo la enzima succinato ubiquinona reductasa. (CAPEAGRO 2005)

**4.2. Resultados y discusión del objetivo 2: Identificar los hongos y bacterias presentes en el suelo de la comunidad Utuñag del cantón Penipe provincia de Chimborazo hasta el periodo de floración del cultivo de papa.**

**Tabla 4-2:** Microorganismos identificados en los laboratorios

<b>Microorganismos identificados</b>
<i>Penicillium</i>
<i>Beauveria</i>
<i>Aspergillus</i>
<i>Trichoderma</i>
<i>Mucor</i>
<i>Fusarium</i>
<i>Acremonium</i>
<i>Chaetomium</i>
<i>Clonostachys</i>

**Realizado por:** Lara A, 2024

En la tabla 4-2 se indica las bacterias y hongos identificados en la investigación, su reconocimiento se realizó en el laboratorio de fitopatología y suelos. En este análisis se logró identificar 9 especies de hongos y 11 tipos de bacterias.

Para la enumeración de bacterias y hongos se basó en la cuantificación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por ml o g de muestra. Fue ejecutada la cuantificación después de 8 días de inoculación y divisada en el contador de colonias, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{UFC} = \# \text{ Colonias contadas} \times 1 \text{ mL} \times \text{Inverso de la dilución} \quad (\text{Arana, Orruño y Barcina, 2010})$$

**Tabla 4-3:** Cuadro resumen de microorganismos encontrados en el medio AN

<b>UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE BACTERIAS</b>				
MUESTRAS	DILUCIONES	REPETICIONES (R)		
		P1	P2	P3
M1	10 <sup>-1</sup>	1430	845	650
	10 <sup>-2</sup>	520	195	260
	10 <sup>-3</sup>	130	65	65
M2	10 <sup>-1</sup>	260	65	325
	10 <sup>-2</sup>	130	65	65
	10 <sup>-3</sup>	65	0	65
M3	10 <sup>-1</sup>	130	130	195

	$10^{-2}$	65	65	65
	$10^{-3}$	65	0	65
M4	$10^{-1}$	65	260	195
	$10^{-2}$	390	130	65
	$10^{-3}$	195	65	65
M5	$10^{-1}$	325	1430	845
	$10^{-2}$	130	325	390
	$10^{-3}$	195	65	65

AN; Agar Nutriente

Realizado por: Lara A, 2024

En la tabla 4-3 se determinó las colonias de los microorganismos identificados de acuerdo a cada etapa, tres parcelas definidas y diluciones respectivas, lo que se obtuvo valores para la solución  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  contabilizando desde 0 a 1430 colonias de bacterias, examinados de acuerdo a cada parcela como se muestra en la tabla.

Los organismos del suelo se encuentran organizados en diferentes niveles tróficos de una cadena alimenticia de manera que si algún eslabón es afectado estos se ven obligados a alterarse ya que están estrechamente relacionados. Sin embargo, la acelerada pérdida de materia orgánica que están experimentando los suelos agrícolas debido a las intensivas prácticas de producción y el uso indiscriminado de sustancias químicas ha propiciado una drástica disminución de microorganismo.

Es así como se puede presenciar en la (Tabla 4-3) que existe una disminución del número de bacterias debido a que estas son saprofitas y se alimentan de hongos

**Tabla 4-4.** Cuadro resumen de microorganismos encontrados en medio PDA

UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE HONGOS				
MUESTRAS	DILUCIONES	REPETICIONES ®		
		P1	P2	P3
M1	$10^{-1}$	180	1625	1105
	$10^{-2}$	900	780	260
	$10^{-3}$	4000	7000	1000
M2	$10^{-1}$	120	90	30
	$10^{-2}$	100	0	0
	$10^{-3}$	0	0	0
M3	$10^{-1}$	90	10	80
	$10^{-2}$	100	0	0
	$10^{-3}$	0	0	0
M4	$10^{-1}$	10	140	0
	$10^{-2}$	0	100	0
	$10^{-3}$	0	0	0

M5	10 <sup>-1</sup>	0	230	40
	10 <sup>-2</sup>	0	0	0
	10 <sup>-3</sup>	0	0	0

PDA; Agar Papa Dextrosa

Realizado por: Lara A, 2024

En la tabla 4-4 se visualiza los valores obtenidos para las 3 diluciones aplicadas, mismos que nos indica la fluctuación de las colonias de hongos en cada uno de los muestreos.

Podemos probar que las aplicaciones de los pesticidas generaron impacto sobre las poblaciones de hongos, es así que el muestreo 4 nos permite evidenciar una baja presencia de individuos, cabe señalar que debido a las condiciones ambientales no se realizó aplicaciones fitosanitarias a los 70 días, demostrando que el mecanismo de acción de los fungicidas permanece en el tiempo.

**Tabla 4-5:** Total de hongos y bacterias

<b>TOTAL DE MICROORGANISMOS ENCONTRADOS</b>				
<b>MUESTRAS</b>	<b>BACTERIAS</b>	<b>%</b>	<b>HONGOS</b>	<b>%</b>
M1	4160	37,21	16850	93,66
M2	1040	9,30	340	1,89
M3	780	6,98	280	1,56
M4	1430	12,79	250	1,39
M5	3770	33,72	270	1,50
SUBTOTAL	11180		17990	
TOTAL				29170

Realizado por: Lara A, 2024

En la tabla 4-5 se puede observar claramente el total de microorganismos encontrados en todo el trabajo de investigación dando como resultado el total de 29170 donde el porcentaje más alto en bacterias encontrados es en la muestra sin perturbaciones tanto en bacterias con un con un porcentaje de 37,21% y en hongos con el 93,66% a comparación cuando se aplicó los fungicidas se pudo observar apenas un 1,50%.

Cuando se emplean los pesticidas en el cultivo de papa dentro de las aplicaciones mayormente se realiza el control para hongos donde se utiliza los fungicidas, por esta razón el número de hongos están en menor proporción que las bacterias.

#### **4.2.1. Especies de Hongos encontrados en el Laboratorio de Fitopatología**

#### 4.2.1.1. Especie 1: *Beauveria bassiana*

Las colonias de hongos del Especie\_1 crecidos en medio de cultivo PDA a una temperatura de 28 °C en condiciones de oscuridad presentaron forma circular, elevación umbilicada, plano y convexa, borde entero, superficie plana, elevación umbilicada; el color observado en el anverso de la colonia fue un tono blanco y en el reverso de la colonia fue un café amarillo pálido (Tabla 4-6).

**Tabla 4-6:** Características culturales de las cepas del género *Beauveria bassiana*.

Muestra	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Color Anverso	Color Reverso
E1	Circular	Umbilicado	Entero	Rugosa	Blanco	Amarillo pálido

E; Especie

Realizado por: Lara A, 2024

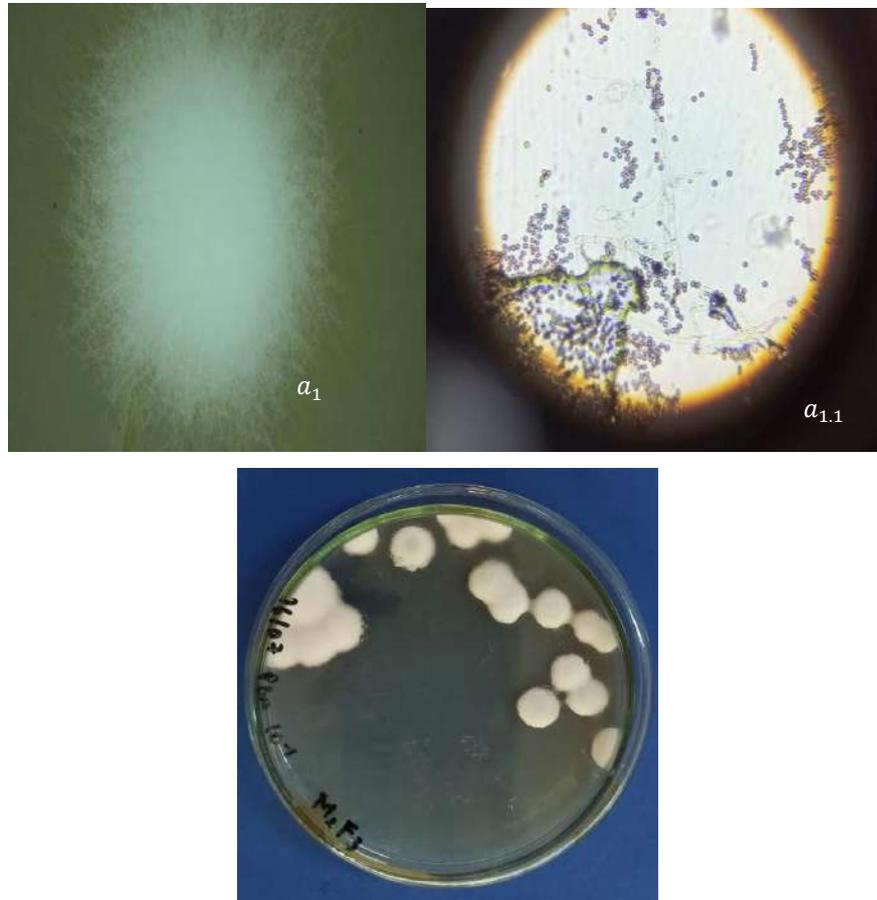
De esta manera se observa en la siguiente ilustración algunas características de los medios de cultivos desarrollados:



**Ilustración 4-1:** Características culturales de las cepas del género *Beauveria bassiana*

Realizado por: Lara A, 2024

Sus esporas reconocen la cubierta del insecto plaga penetrando en su interior, dentro del cual liberan sustancias que lo digieren y lo destruyen. Si las condiciones ambientales son adecuadas el hongo produce nuevas esporas en el exterior del insecto muerto. Aunque el hongo actúa desde el inicio del tratamiento, su efectividad se observa a partir del 4° día (Martínez Alba, Arriola Mosqueda y Sahagún, 2015).



**Ilustración 4-2:** Características morfológicas de las cepas del género *Beauveria bassiana*.

**Realizado por:** Lara A, 2024

Los hongos entomopatógenos actúan por contacto en los diferentes estadios de los insectos plaga. Es de apariencia polvosa, de color blanco algodonoso o amarillento cremoso. El ciclo de vida de este hongo consta de dos fases: la patogénica y la saprofitica (INTAGRI 2016).

El hongo *Beauveria bassiana* es considerado uno de los agentes de control biológico con mejor eficiencia en el sector agrícola. El uso masivo de hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* producidos en sustratos naturales para el control de hormigas cortadoras del género *Atta* spp. tiene un gran potencial de disminuir la cantidad de plaguicidas químicas aplicadas en la agricultura (Chiriboga, Gomez B. y Garces E. 2015).

4.2.1.2. *Especie\_2: Clonostachys sp*

Las colonias de hongos de la Especie\_2 crecidos en medio de cultivo PDA a una temperatura de 28 °C en condiciones de oscuridad presentaron forma filamentosa, elevación convexa, borde filamentoso, superficie rugosa, que varían entre un color beige y blanco; elevación convexa; el color observado en el anverso de la colonia fue un tono gris y en el reverso de la colonia fue un color blanco.

**Tabla 4-3:** Características culturales de las cepas del género *Clonostachys spág.*

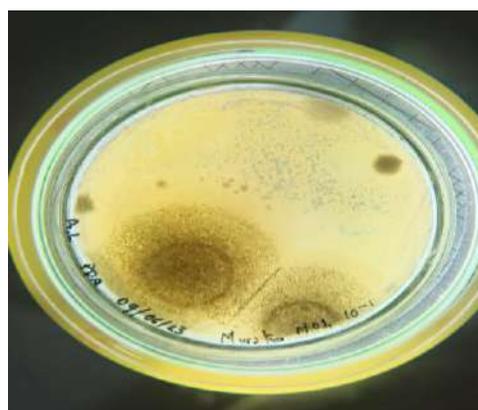
Especie	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Color Anverso	Color Reverso
E1	Filamentosa	Convexo	Filamentosa	Rugosa	Gris	Blanco
E1	Filamentosa	Umbilicado	Filamentosa	Rugosa	Blanco	Amarillo pálido

E; Especie

Realizado por: Lara A, 2024

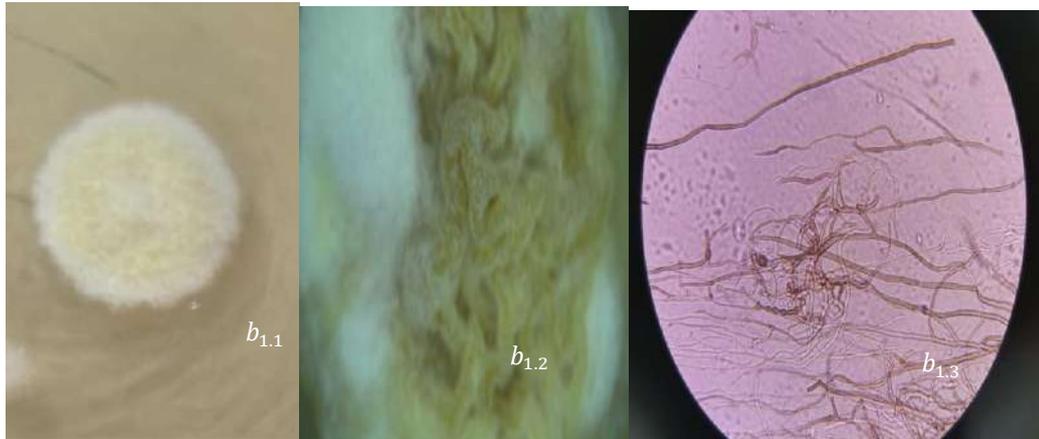
En la ilustración 4-7 se muestra las cepas del género y crecieron en el medio de cultivo PDA incubados a 25°C en condiciones de oscuridad, con 10 días de edad. Muestra 2 (**b<sub>1</sub>**).

El hongo *Clonostachys sppág.*, conocido por su capacidad antifúngica, y acción micoparasítica contra patógenos, produce una amplia variedad de compuestos orgánicos volátiles (García Ávila et al. 2018). (Ilustración 4.7) *Clonostachys sp* pertenece al filo *Ascomycota* (Familia: *Bionectriaceae*) y su teleomorfo es *Bionectria ochroleuca*; *Clonostachys sp* es un saprófito micoparásito cosmopolita que en ciertos hospederos puede permanecer por periodos prolongados dentro de sus tejidos (actuando como endófito) o creciendo epifíticamente (Muñoz Díaz y Vega Díaz 2016).



**Ilustración 4-3:** Características culturales  
de las cepas del género  
*Clonostachys spág.*

Realizado por: Lara A, 2024



**Ilustración 4-4:** Características morfológicas de las cepas de género  
*Clonostachys spág.*

Realizado por: Lara A, 2024

En cada ilustración se puede identificar los diferentes rasgos del organismo que existe en el medio de cultivo y a través del microscopio.

Los cultivos de *Clonostachys sp* son de color blanco a salmón pálido, el micelio es de aspecto tomentoso a granuloso, como resultado de la formación de conidióforos con masas de conidias, los que siempre son más abundantes en el centro que en los márgenes de la colonia (Muñoz Díaz y Vega Díaz 2016).

*Clonostachys* es un hongo saprófito y micoparásitico que actúa aparentemente como un descomponedor secundario capaz de nutrirse de tejido necrosado vegetal, así como de otros hongos descomponedores del género. Presenta diversos mecanismos de acción como controlador como son la competencia, micoparasitismo y antibiosis (FAO 2020).

**4.2.1.3. Especie\_3: *Chaetomium spág.***

Las colonias de hongos del Especie\_3 crecidos en medio de cultivo PDA a una temperatura de 28 °C en condiciones de oscuridad presentaron forma filamentosa, elevación convexa, borde filamentoso, superficie rugosa, que varían entre un color beige y blanco; elevación convexa; el color observado en el anverso de la colonia fue un tono gris y en el reverso de la colonia fue un color blanco.

**Tabla 4-4:** Características culturales de las cepas del género *Chaetomium* spág.

Muestra	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Color Anverso	Color Reverso
E3	Filamentosa	Convexo	Filamentosa	Rugosa	Blanco	Blanco
E3	Filamentosa	Umbilicado	Filamentosa	Rugosa	Blanco	Beige

E; Especie

Realizado por: Lara A, 2024

El género *Chaetomium* comprende hongos saprófitos del suelo, ambientales, pertenecientes a la división *Ascomycota*, familia *Chaetomiaceae*. Pueden causar infecciones superficiales o diseminadas e incluso comprometer el sistema nervioso central (SNC). El traumatismo o la inhalación de esporas son la principal puerta de entrada. La infección invasiva por especies de *Chaetomium* se ha observado en pacientes con enfermedades onco-hematológicas, inmunosupresión post-trasplante o usuarios de drogas endovenosas (Aranda et al. 2022).

Conocido por su habilidad en la destrucción de los nutrientes y substratos complejos tales como la madera almacenada, yute y otras fibras naturales utilizando celulosa y lignina como fuentes de carbono (Campos y Roselló 1998).



**Ilustración 4-5:** Características culturales de las cepas del género *Chaetomium* spág.

Realizado por: Lara A, 2023

Los hongos del género *Chaetomium*, es un hongo dematiáceo y comprende hongos saprófitos del suelo y medio ambiente, son ascomicetos citados como antagonistas frente a diversos hongos patógenos (Campos y Roselió 2003).



**Ilustración 4-6:** Características morfológicas de las cepas de género *Chaetomium spág.*  
Morfotipo 3 (*c*<sup>1.1</sup>. *c*<sup>1.2</sup>).

**Realizado por:** Lara A, 2023

#### 4.2.1.4. Especie\_4: *Mucor spág.*

Las colonias de hongos del Especie\_4 *Mucor spág.* crecidos en medio de cultivo PDA a una temperatura de 28 °C en condiciones de oscuridad presentaron forma circular, filamentosa, elevación plana, umbilicada, umbeiforme, borde entero, filamentoso, superficie plana, rugosa, irregular, superficie radial, elevación plana; el color observado en el anverso de la colonia fue un tono verdoso y en el reverso de la colonia fue un café pálido *Mucor sppág.* son de rápido crecimiento en el medio de cultivo, produciendo esporangios en esporangióforos globosos, solitarios o ramificados. Los esporangios contienen toda la columela y esporas, pudiendo ser delicuescentes (en disolución). Los esporangios tienen una pared delgada que, cuando madura se rompe irregularmente para liberar esporangiosporas redondas o elipsoidales (4 a 8 µm de diámetro). Con las esporas dispersas, la columela que llevaba los esporangios es visible, dejando a veces un collar en la base del esporangio (Iglesias Ososres 2020).

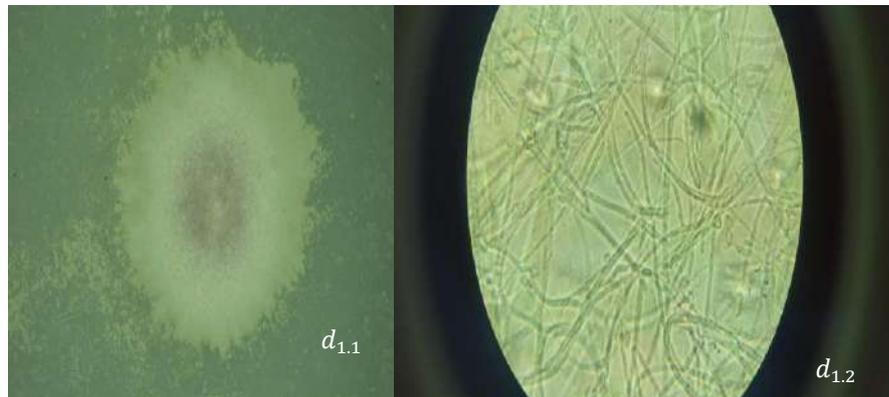
**Tabla 4-5:** Características culturales de las cepas del género *Mucor spág.*

Especie	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Color Anverso	Color Reverso
E4	Circular	Plano	Entero	Plano	Blanco	Blanco

E; Especie

**Realizado por:** Lara A, 2024

Los mucorales son principalmente hongos saprofiticos que habitan suelo y en plantas en descomposici3n. Durante la reproducci3n sexual, las cepas compatibles forman hifas cortas y especializadas llamadas gametangios. En el punto donde se fusionan dos gametangios complementarios, se desarrolla un zigosporangio esférico de paredes gruesas (Cruz Lachica et al., 2017).



**Ilustraci3n 4-7:** Características morfológicas de las cepas de género *Mucor* spág. Morfotipo 4 ( $d^{1.1}$ .  $d^{1.2}$ ).

**Realizado por:** Lara A, 2024

#### 4.2.1.5. Especies\_5: *Aspergillus flavus*

Las colonias de hongos de la Especie\_5, las mismas que corresponde *Aspergillus flavus*. crecidos en medio de cultivo PDA a una temperatura de 28 °C en condiciones de oscuridad presentaron forma circular, elevaci3n convexa, borde entero, superficie plana; el color observado en el anverso de la colonia fue un tono verde olivo y en el reverso de la colonia fue blanco.

**Tabla 4-6:** Características culturales de las cepas del género *Aspergillus flavus*

Especie	Forma	Elevaci3n	Borde	Superficie	Color Anverso	Color Reverso
E5	Circular	Convexa	Entero	Plano	Verde olivo	Blanco

E; Especie

**Realizado por:** Lara A, 2024



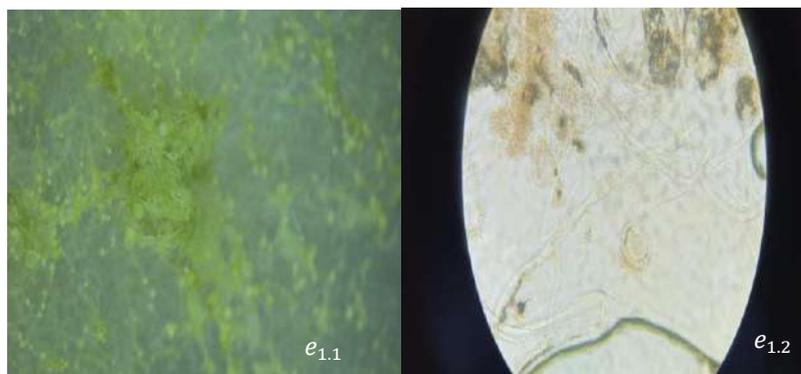
**Ilustración 4-8:** Características cultura de las cepas del género *Aspergillus flavus*.

**Realizado por:** Lara A, 2024

En la ilustración muestra el género del filo en un medio de cultivo PDA incubados a 25°C en condiciones de oscuridad, con 10 días de edad Especie 5 ( $e^1$ ).

*Aspergillus flavus* es un hongo filamentoso hialino, saprofito, perteneciente al filo Ascomycota. Se encuentra formado por hifas hialinas septadas y puede tener reproducción sexual (con formación de ascosporas en el interior de ascas) y asexual (con formación de conidios) (Rangel Muñoz et al. 2020). Los principales mecanismos de acción identificados en una inhibición del crecimiento de colonias de hongos del género *Aspergillus* patógenos fueron el micoparasitismo, la antibiosis y la competencia (INSST 2021).

Según Pildain et al. (2005) es un hongo frecuentemente asociado con productos vegetales particularmente maní, maíz, algodón y nueces, cultivados en áreas de clima tropical y subtropical. Su importancia radica en su habilidad para producir aflatoxinas, metabolitos secundarios que se encuentran entre los hepatocancerígenos naturales más potentes.



**Ilustración 4-9:** Características morfológicas de las cepas de género *Aspergillus flavus*. . Especie 5 ( $e^{1.1}$ ,  $e^{1.2}$ ).

Realizado por: Lara A, 2024

#### 4.2.1.6. Especie\_5.1: *Aspergillus niger*

Las colonias de hongos de la Especie\_5.1, las mismas que corresponde *Aspergillus niger*. crecidos en medio de cultivo PDA a una temperatura de 28 °C en condiciones de oscuridad presentaron forma circular, elevación convexa, borde entero, superficie plana; color anverso verde oscuro y color reverso blanco.

**Tabla 4-7:** Características culturales de las cepas del género *Aspergillus niger*

Morf.	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Color Anverso	Color Reverso
E5.1	Circular	Convexa	Entero	Plano	Verde oscuro	Blanco

E; Especie

Realizado por: Lara A, 2023

*Aspergillus niger* es un hongo que produce un moho negro en vegetales muy común en la lechuga, el tomate o la acelga. Es una de las especies más corrientes del género *Aspergillus*. El hongo *Aspergillus niger* (*A. niger*) produce diversos compuestos de gran interés para las industrias farmacéutica y de alimentos (enzimas, ácidos orgánicos), y es el principal productor de ácido cítrico a nivel industrial por cultivo líquido. Se ha observado que se obtiene un alto rendimiento de ácido cítrico cuando existe una alta acumulación de este en el micelio, que puede estar asociada con una alta concentración de glucosa y de oxígeno disuelto en el medio líquido (Reyes Ocampo, González Brambila y López Isunza 2013).

Se destaca el potencial biotecnológico del género *Aspergillus* como un microorganismo de gran importancia en la producción de moléculas y enzimas de interés científico, farmacéutico, para la industria en general y de alimentos en particular; estos liberan proteínas únicas en diferentes

procesos metabólicos, no encontradas en otros hongos del género. Por ello, han sido empleados como fuente de enzimas industriales, tales como  $\alpha$ -amilasas, celulasas y pectinasas, usadas en la industria alimenticia desde la década de 1960 (Gómez, Arboleda y Mosquera 2021).



**Ilustración 4-10:** Características morfológicas de las cepas de género *Aspergillus niger*. Especie 5.1 ( $e^{2.1}$ ).

Realizado por: Lara A, 2023

#### 4.2.1.7. Especie\_6: *Thichoderma spág.*

**Tabla 4-8:** Características culturales de las cepas del género *Thichoderma spág.*

Especie	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Color Anverso	Color Reverso
E6	Filamentosa	Umbilicado	Entero	Lisa	Blanco	Blanco

E; Especie

Realizado por: Lara A, 2023

Crecidos en el medio de cultivo PDA incubados a 25°C en condiciones de oscuridad, con 10 días de edad. Especie 6 ( $f^1$ ).

Las especie de *Trichoderma* predominan en ecosistemas terrestres (bosques o suelos agrícolas), tienen bajo requerimientos son filamentosos anamórficos, heterótrofos, aerobios, con una pared celular compuesta por quitina, de un crecimiento rápido que puede emplear una gran variedad de sustratos complejos como celulosa, quitina, pectina y almidón como fuente de carbono, además presentan micelio septado, conidias generalmente ovaladas, conidióforo hialino no verticilado, fiálides singulares o en grupos, conidias unicelulares coloreadas, la colonia muestra un color blanquecino en los primero días para luego tornarse de color verde, amarillo y verde amarillento

con abundante esporulación, también es un hongo es saprofítico, lo cual concuerda con lo mencionado por Hernández Melchor, Ferrera Cerrato y Alarcón (2019), además la mayoría de cepas de *Trichoderma spág.* No poseen etapa sexual, por lo que producen únicamente esporas asexuales, sin embargo, se conoce la etapa sexual de unas pocas cepas, pero no han sido consideradas para propósitos de biocontrol.

Durante su desarrollo y crecimiento producen hifas de 5 - 10  $\mu\text{m}$  de ancho que conforman el micelio septado, los conidióforos tienen aspecto cónico, además producen cantidad de conidios asexuales unicelulares de color verde o hialinos, lisos o con paredes muy poco ásperas, subglobosos, cilíndricos, oblongos, con diámetro promedio de 3 a 5  $\mu\text{m}$ , los cuales se forman a partir de células conidiógenas y fiálides (singulares o en grupos), que se ubican en los extremos de los conidióforos, los cuales son hialinos muy ramificados y no verticilados. Además, este hongo puede producir clamidosporas (unicelulares), globosas en sustratos naturales, las que pueden ser intercalares y, en ocasiones, terminales en los extremos de las hifas, de tono verde y menores de 15  $\mu\text{m}$  de diámetro. Estas esporas pueden perdurar a través del tiempo, por ello son consideradas estructuras de sobrevivencia (Conrado Meyer, 2019).

El género *Trichoderma spág.* muestra una enorme capacidad de colonizar la rizosfera de plantas y varios sustratos con diferentes propiedades, además varias cepas viven en climas templados y suelos ácidos; no obstante, tienen la posibilidad de crear estructuras de resistencia como clamidosporas y microesclerocios, por lo tanto, son capaces de sobrevivir en condiciones bastante adversas, además poseen enorme potencial de biocontrol de fitopatógenos que crecen en altas temperaturas, suelos salinos o alcalino y en condiciones de baja humedad. Dichos hongos se alimentan absorbiendo nutrientes por medio de sus hifas, para atravesar la pared celular y utilizar los componentes como nutrientes, los sustratos de elevado peso molecular se hidrolizan a moléculas más pequeñas lo que quiere decir que los hongos liberan enzimas extracelulares que, cuanto más distintas y numerosas, proporcionará más grandes ventajas para vivir en ambientes con diferentes condiciones (Conrado Meyer, 2019).

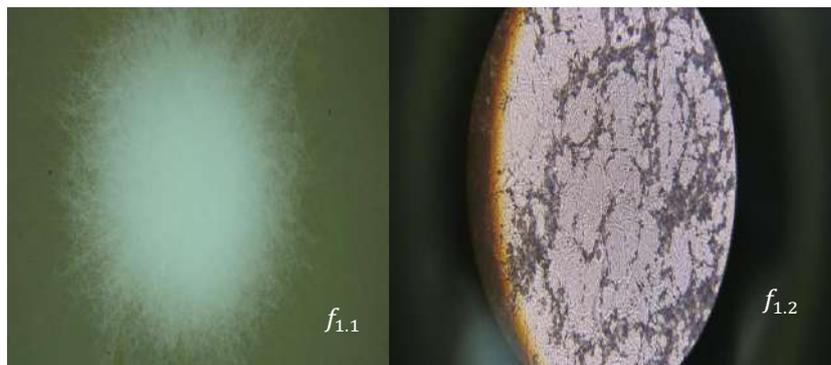
Una de las propiedades más importantes del género *Trichoderma* es su capacidad para parasitar hongos, ejemplificando *Trichoderma virens* tiene la capacidad de enrollar, penetrar y eliminar el contenido citoplasmático de *Rhizoctonia solani*, esto se debe a la función de generar metabolitos que son capaces de inhibir el crecimiento de *Rhizoctonia Solani* y *Monilinia fructicola*. Estudios ecofisiológicos han manifestado que, en mayor o menor medida, cada una de las especies de *Trichoderma* son parásitos efectivos de hongos fitopatógenos y oomicetos Druzhinina et al., (2018), como estrategia de nutrición biotrófica, además tienen la posibilidad de alimentarse de

biomasa fúngica, por lo cual es más conveniente usar el concepto micotrofia para conceptualizar este estilo de vida común en especies de *Trichoderma* ( Conrado Meyer, 2019).



**Ilustración 4-11:** Características culturales de las cepas del género *Thichoderma* spág.

Realizado por: Lara A, 2024



**Ilustración 4-12:** Características morfológicas de las cepas de género *Thichoderma* spág. Especie 6 ( $f^{1.1}$ .  $f^{1.2}$ ).

Realizado por: Lara, A, 2023

*Trichoderma* sppág., actúan a través de diversos mecanismos que incluyen la competencia por los nutrientes, el hiperparasitismo y la antibiosis de los patógenos. Se trata pues, de hongos benéficos que impiden el desarrollo de los hongos o nematodos causantes de enfermedades en las plantas, como la frutilla (Chiriboga, Gómez y Gárces 2015).

#### 4.2.1.8. Especie\_7: *Penicillium spág.*

Las colonias de hongos del Especie\_7, las mismas que corresponde *Penicillium spág.* crecidos en medio de cultivo PDA a una temperatura de 28 °C en condiciones de oscuridad presentaron forma circular, elevación plana y umbilicado un borde entero, superficie plana un color anverso verde y de reverso beige.

**Tabla 4-9:** Características culturales de las cepas del género *Penicillium spág.*

Especie	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Color Anverso	Color Reverso
E7	Circular	Plano	Entero	Plano	Verde	Beige
E7	Circular	Umbilicado	Entero	Rugosa	Verde	Beige

E; Especie

Realizado por: Lara A, 2023

Entre los mecanismos de acción de *Penicillium spág.* se identifica la antibiosis, donde los metabolitos microbianos ejercen acción biocida sobre el fitopatógeno, ya sea por toxicidad, acción lítica u otras conducentes a la inhibición metabólica. También está la competencia entre la microflora y los patógenos por espacio, por hospederos o por nutrientes, sobre todo cuando el objeto de la competencia es limitado. El parasitismo es otro mecanismo de acción directa y unilateral, donde se ve afectado el fitopatógeno por el parásito (Jiménez Camargo et al., 2018)

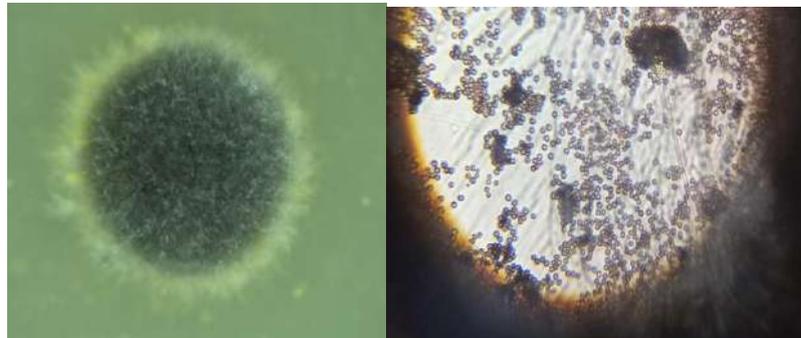
Las cepas de la ilustración 4-17 fueron desarrollados en medio de cultivo PDA incubados a 25°C en condiciones de oscuridad, con 10 días. Especie 7 ( $g^1$ ).

*Penicillium spág.* es un hongo su temperatura óptima de crecimiento es de 20-30 °C, aunque dependiendo de la especie puede crecer en el intervalo de 5-37 °C, produciendo la alteración de alimentos en refrigeración; también tolera grandes variaciones de pH entre 3,5-10, aunque crece mejor y más rápido a pH cercano a 4, sus esporas se encuentran en forma de bioaerosol en el aire, con una concentración ambiental más o menos estable a lo largo del año, aunque se dan concentraciones pico en invierno y primavera, de crecimiento relativamente rápido que está presente en todos los ambientes, como en los cultivos de ajo, invade tubérculos, aprovechando heridas o cualquier condición de estrés durante la germinación, brota y crece, esto provoca lesiones amarillas cubiertas de moho blanco que luego se pone verde (por fructificaciones), lo que impide que el tubérculo germine y si lo hace, tiene poco vigor hasta la muerte ( Astorga Quirós, et al, 2013).



**Ilustración 4-13:** Características culturales de las cepas del género *Penicillium spág.*

**Realizado por:** Lara A, 2024



**Ilustración 4-14:** Características morfológicas de las cepas de género *Penicillium fungi*. Especie 7 ( $g^{1.1}$ .  $g^{1.2}$ ).

**Realizado por:** Lara A, 2024

*Penicillium fungi* son hongos ambientales de amplia distribución que se caracterizan por formar conidios a través de una estructura ramificada similar a un pincel (“penicilio”), estas ramificaciones terminan en un tipo de células conidiógenas llamadas fiálides, estas fiálides originan las esporas (Bernuy Portilla, Tabaco Espinoza y Vera Rodas 2023).

Degrada altas concentraciones de metamidofos, un tipo de plaguicida muy nocivo para la salud humana y el medio ambiente, donde los autores concluyen que variando las condiciones de tiempo y temperatura y pH se ejerce un efecto determinante en el tiempo y porcentaje de degradación (Ávila y Quito 2019).

#### 4.2.1.9. Especie\_8: *Fusarium spág.*

Las colonias de hongos de la Especie\_8, las mismas que corresponde *Fusarium spág.* crecidos en medio de cultivo PDA a una temperatura de 28 °C en condiciones de oscuridad presentaron forma circular.

En este género fueron crecidos en el medio de cultivo PDA incubados a 25°C en condiciones de oscuridad, con 10 días de edad. Morfotipo 8 (**h<sup>1</sup>**) (ilustración 4-19).

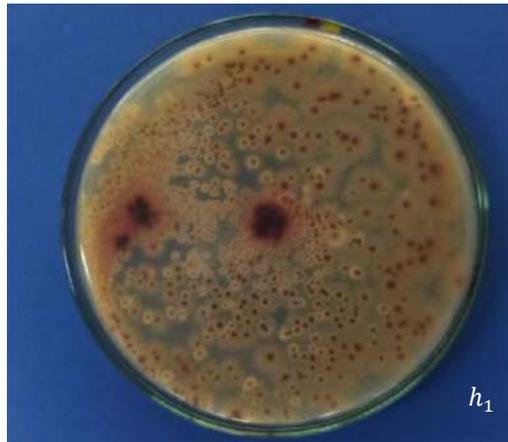
El género *Fusarium spág.* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas. Debido a su capacidad de crecer a 37°C, son considerados oportunistas son saprófitas, anamórficas que tienen cepas patogénicas y no patogénicas, tiene varios miembros patógenos de plantas que ocasionan la marchitez vascular en sus diversas etapas de crecimiento y tienen la capacidad de desarrollar o no una etapa de reproducción sexual de acuerdo con la especie, en campo se puede identificar fácilmente puesto que forma heridas hundidas de color negro con tonalidades marrones en la base de los tallos, además, puede manifestarse como manchas rojizas en los pecíolos cercanos a la copa de la planta y, en ocasiones se presentan masas de micelios rosadas con tonalidades lila o blancas inclusive que crecen en la base de los esquejes o en la copa de una planta Buechel (2018), además tiene una distribución cosmopolita es decir que se puede encontrar en una extensa variedad de suelos como habitante natural, también se registra como patógeno en una vasta y diversa gama de plantas hospedantes con base en propiedades morfológicas (Berruezo, 2018).

**Tabla 4-10:** Características culturales de las cepas del género *Fusarium spág.*

<b>Especie</b>	<b>Forma</b>	<b>Elevación</b>	<b>Borde</b>	<b>Superficie</b>	<b>Color Anverso</b>	<b>Color Reverso</b>
E8	Circular	Convexa	Entero	Plano	Rosado	Blanco

E; Especie

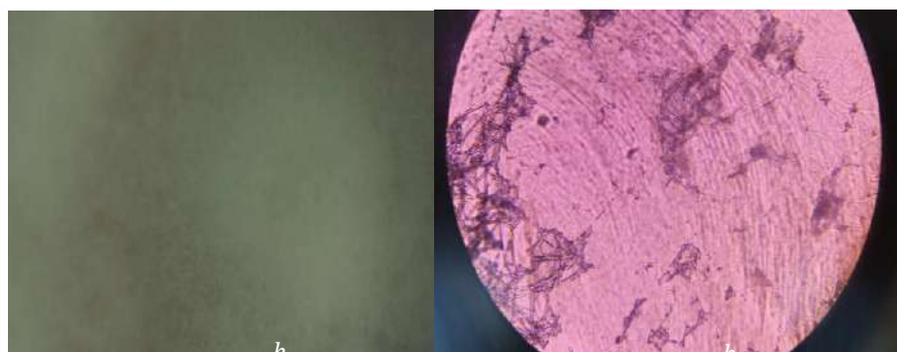
**Realizado por:** Lara A, 2024



**Ilustración 4-15:** Características culturales de las cepas del género *Fusarium spág.*

Realizado por: Lara A, 2023

Las colonias de *Fusarium spág.* infectan la planta hospedera por medio de la germinación de las clamidosporas que son estructuras de resistencia que puede encontrarse en el suelo por casi diez años, además la infección en la planta hospedera se origina como repuesta a exudados de raíces primarias y secundarias, luego de la germinación las hifas se adhieren e ingresan en la epidermis, asimismo tienen la posibilidad de ingresar mediante heridas autogénicas, antrópicas o por nemátodos, una vez en la planta se mueve hacia el tejido vascular por colonización intercelular de los vasos del xilema y los invade una vez que están maduros y se sitúa en ellos, coloniza los vasos del xilema por crecimiento del micelio o por medio del transporte pasivo de los microconidios producidos en estos vasos, lo que genera una colonización inmediata y discontinua, al cortarse la base del cuello y durante la raíz principal, gracias a dichos ataques se obstruye el paso libre de algunas sustancias nutritivas hacia las raíces y la planta sucumbe (Pfenning , y otros, 2012).



**Ilustración 4-16:** Características morfológicas de las cepas de género *Fusarium spág.* Especie 8 (***h*<sup>1.1</sup>**, ***h*<sup>1.2</sup>**).

**Realizado por:** Lara A, 2024

Pertenece a un género cosmopolita de hongos imperfectos y es de interés agrícola porque numerosas especies causan enfermedades de una amplia gama de especies de plantas, están ampliamente distribuidas en el suelo y en partes de plantas subterráneas y aéreas, además de restos de plantas; produce clamidosporas, resistentes al secado y a las condiciones adversas, permiten que el hongo sobreviva períodos prolongados en el suelo.

#### 4.2.1.10. Especie\_9: *Acremonium sppág.*

Las colonias de hongos de la Especie\_9, las mismas que corresponde *Acremonium sppág.* crecidos en medio de cultivo PDA a una temperatura de 28 °C en condiciones de oscuridad presentaron forma circular, filamentosa, elevación plano umbilicado, borde entero superficie plana; el color observado en el anverso de la colonia fue un café claro y al reverso un color beige.

Se observa en la ilustración la forma, que es circular, el color y tamaño de los hongos de forma directa, así, crecieron en el medio de cultivo PDA incubados a 25°C en condiciones de oscuridad, con 10 días de edad. Especie 9 (*i*<sup>1</sup>).

Los mecanismos que estos hongos utilizan incluyen biosorción, captación intracelular y transformación química, aunque pueden variar dependiendo de la especie (Villalba Villalba et al., 2018).

**Tabla 4-11:** Características culturales de las cepas del género *Acremonium sppág.*

<b>Especie</b>	<b>Forma</b>	<b>Elevación</b>	<b>Borde</b>	<b>Superficie</b>	<b>Color Anverso</b>	<b>Color Reverso</b>
E9	Circular	Plano	Entero	Plano	Café claro	Beige
E9	Filamentosa	Umbilicado	Entero	Plano	Café claro	Beige

E; Especie

**Realizado por:** Lara A, 2024

Los hongos del género *Acremonium sppág.* Son Ascomicetos, pertenecientes al grupo de hialohifomicetos.

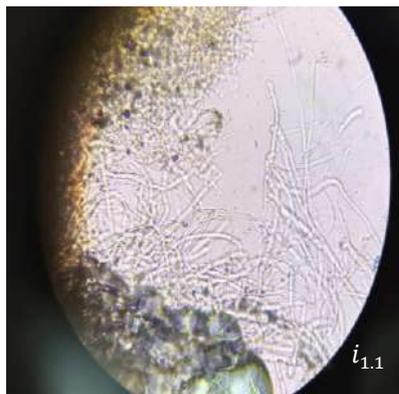
Con respecto a las diluciones en las diferentes parcelas en el estudio se pudo aislar las siguientes bacterias que a continuación se realizaron la identificación solamente cultural, la misma que se la realizo al observarlas por el estereoscopio.

*Acremonium sp* es uno de los representantes del reino fungi en la producción de metabolitos secundarios de interés biológico en especial los dirigidos a la industria farmacéutica como lo son los antibióticos que a pesar de presentar estructuras químicas complejas, representan un gran interés económico (Padilla 2012)



**Ilustración 4-17:** Características culturales de las cepas del género *Acremonium spp*g.

Realizado por: Lara A, 2024

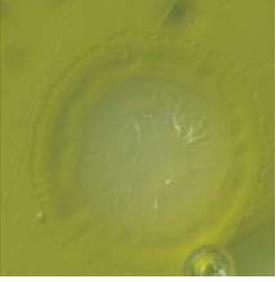
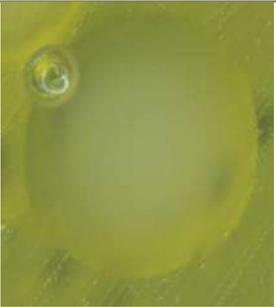
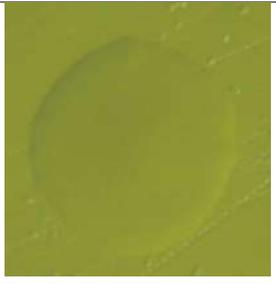


**Ilustración 4-18:** Características morfológicas de las cepas de género *Acremonium spp*g. Morfotipo 9 (*i*<sup>1.1</sup>).

Realizado por: Lara A, 2024

Bacterias

**Tabla 4-23:** Características culturales de las colonias encontradas

Morfología colonial	Ilustración	Identificación cultural
<p>Colonia verde brillante rugosa</p>		<p><b>Forma:</b> irregular  <b>Elevación:</b> plana  <b>Borde:</b> crenada  <b>Superficie:</b> rugosa  <b>Color:</b> amarilla                      oscura  <b>Características                      ópticas:</b> brillante</p>
<p>Colonia verde traslucida brillante plano</p>		<p><b>Forma:</b> circular  <b>Elevación:</b> plana  <b>Borde:</b> crenada  <b>Superficie:</b> lisa  <b>Color:</b> verde                      translucida  <b>Características                      ópticas:</b> brillante</p>
<p>Colonia verde traslucida brillante plano</p>		<p><b>Forma:</b> circular  <b>Elevación:</b> plana  <b>Borde:</b> crenada  <b>Superficie:</b> lisa  <b>Color:</b> verde                      translucida  <b>Características                      ópticas:</b> brillante</p>
<p>Colonia verde traslucida brillante plana</p>		<p><b>Forma:</b> circular  <b>Elevación:</b> plana  <b>Borde:</b> crenada  <b>Superficie:</b> lisa  <b>Color:</b> verde                      translucida  <b>Características                      ópticas:</b> brillante</p>
<p>Colonia verde traslucida brillante plana</p>		<p><b>Forma:</b> circular  <b>Elevación:</b> plana  <b>Borde:</b> crenada  <b>Superficie:</b> lisa  <b>Color:</b> verde                      translucida  <b>Características                      ópticas:</b> brillante</p>

<p>Colonia verde opaco traslucida brillante plana</p>		<p><b>Forma:</b> circular <b>Elevación:</b> plana <b>Borde:</b> crenada <b>Superficie:</b> lisa <b>Color:</b> verde opaco <b>Características ópticas:</b> brillante</p>
<p>Colonia verde translucida brillante plana</p>		<p><b>Forma:</b> circular <b>Elevación:</b> plana <b>Borde:</b> crenada <b>Superficie:</b> lisa <b>Color:</b> verde translucida <b>Características ópticas:</b> brillante</p>
<p>Colonia verde opaca Irregular</p>		<p><b>Forma:</b> irregular <b>Elevación:</b> plana <b>Borde:</b> crenada <b>Superficie:</b> rugosa <b>Color:</b> verde opaca <b>Características ópticas:</b> opaca</p>
<p>Colonia verde translucida brillante rugosa</p>		<p><b>Forma:</b> circular <b>Elevación:</b> rugosa <b>Borde:</b> entera <b>Superficie:</b> rugosa <b>Color:</b> verde translucida <b>Características ópticas:</b> brillante</p>
<p>Colonia verde translucida brillante rugosa</p>		<p><b>Forma:</b> irregular <b>Elevación:</b> plana <b>Borde:</b> crenada <b>Superficie:</b> rugosa <b>Color:</b> verde translucida <b>Características ópticas:</b> brillante</p>
<p>Colonia amarilla brillante plana</p>		<p><b>Forma:</b> circular <b>Elevación:</b> plana <b>Borde:</b> entera <b>Superficie:</b> lisa <b>Color:</b> amarilla <b>Características ópticas:</b> brillante</p>

Realizado por: Lara A, 2023

## Bacterias

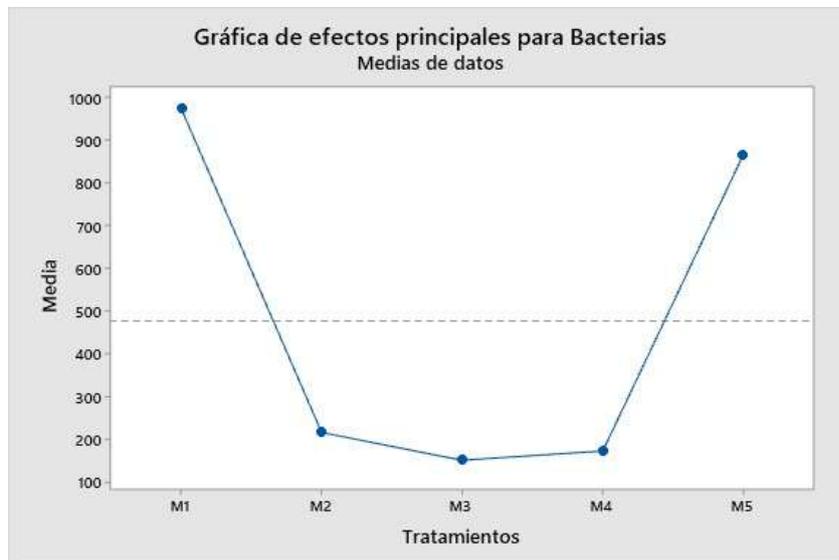
**Tabla 4-24:** Análisis de varianza para bacterias

Fuente	GL	Valor p
Tratamientos	4	0,042 **
Bloques	2	0,863
Error	8	
Total	14	

Realizado por: Lara, A. 2024.

En la tabla 4-24 del análisis de varianza para bacterias el valor de probabilidad 0,042 es decir que resultado menor al nivel de significancia (0,05) por lo tanto se acepta la hipótesis alterna, que indica que al menos uno de los plaguicidas utilizados tiene efecto en las Unidades Formadoras de Colonias en respiración de los suelos de la comunidad Utuñag.

Graficas de efectos principales bacterias.



**Ilustración 4-23:** Gráfica de efectos de los tratamientos de las UFC de las bacterias

UFC; Unidades Formadoras de Bacterias

Elaborado por: Lara, A. 2024

Gráfica de efectos principales para bacterias muestra los tratamientos que se obtuvo durante el desarrollo de la investigación, así se evidencia en la ilustración 4-23 que la muestra M1 fue el que mayor Unidades Formadoras de Colonias (UFC) tuvo, seguido por la muestra M5 y en cuanto a la aplicación de las muestras M2, M3 Y M4 donde se evidencia efecto sobre la disminución UFC en el suelo de acuerdo a los datos obtenidos en los valores de media del análisis.

**Tabla 4-25:** Prueba de Friedman  
UFC para bacterias

Tratamiento	Media (Ranks)	n
M5	4,67	d
M1	4,33	d
M2	2,33	b
M3	1,83	a
M4	1,83	a

UFC; Unidades Formadoras de Colonias

Elaborado por: Lara, A 2024

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,050$ ), en este caso la prueba de Friedman en Unidades Formadoras de Bacterias (UFC), muestra la diferencia de tratamientos en el caso del M4 y el M3 con valores de 1,83; mientras que para el M1 y M5 resultado con valores de media de 4,33 y 4,67 respectivamente, en el T2 se tuvo 2,33; por lo que se concluye que cada tratamiento varía.

## Hongos

Según el análisis de la tabla 4-26, el valor de p es menor al nivel de significancia 0,05 se rechaza hipótesis nula, es decir, que los plaguicidas utilizados tienen efecto en la Microbiota y en la respiración de los suelos de la comunidad Utuñag.

**Tabla 4-26.** Análisis de Varianza UFC  
para hongos.

Fuente	GL	Valor p
Tratamientos	4	0,031*
Bloques	2	0,306
Error	8	
Total	14	

UFC; Unidades Formadoras de Colonias

Realizado por: Lara, A. 2024.

En el análisis de varianza UFC para hongos, dio como resultado el valor de probabilidad de 0,031 que es menor al nivel de significancia (0,05) por tanto, la hipótesis nula se rechaza y se difiere que al menos una de los plaguicidas aplicados tienen efectos en la respiración del suelo.

## Grafica de efectos principales para hongos



**Ilustración 4-24:** Gráficas de efectos principales para hongos

Elaborado por: Lara Angela.2024

En el caso de graficas de las Unidades Formadoras de Colonias de hongos (UFC) los efectos principales de acuerdo con la ilustración 4-3, el que tuvo efecto fue la muestra uno (M1), así como se observa en la gráfica, y se deduce que en este tratamiento tuvo más efecto, en la unidad formadora de colonias de hongos y para la respiración del suelo.

**Tabla 4-27.** Medias UFC de las muestras de hongos

Tratamientos	N	Media	Agrupación
M1	3	975,000	c
M5	3	866,667	c
M2	3	216,667	b
M4	3	173,333	a
M3	3	151,667	a

UFC; Unidades Formadoras de Colonias

Realizado por: Lara Angela ,2024

En la tabla 4-27, de las medias UFC de las muestras de hongos de acuerdo a las comparaciones se concluye que el mejor tratamiento es el M1 con una media de 975, seguido del M5 con una media de 866,667 por otro lado el M2, M4 Y M3 con medias de 216,667;173,333; 151,667 tienen efectos similares.

#### Prueba de Friedman UFC en hongos

El valor  $p(0,14) > 0,05$ , por tanto, no se rechaza la hipótesis nula e indica que no tiene efectos significativos.

Mínima diferencia significativa entre suma de rangos = 7,472

**Tabla 4-28:** Prueba de Friedman UFC para hongos

Tratamiento	Suma (Ranks)	Media (Ranks)	n
M4	6,00	2,00	a
M5	8,00	2,67	a
M3	8,00	2,67	a
M2	8,00	2,67	a
M1	15,00	5,00	b

UFC; Unidades Formadoras de Colonias

Elaborado por: Lara, A, 2024

En la tabla 4-28 muestra los datos obtenidos de la prueba de Friedman, así se visualiza la similitud entre cada tratamiento, como por ejemplo en la M4 se determinó un valor de media de 2, pero para el M5, M3 y M2 tuvo valores de 2,67 para cada uno respectivamente y finalmente para el M1 resulto la media de 5.

Análisis de los datos de Respiración del suelo

**Tabla 4-29:** Análisis de varianza de la respiración del suelo

Fuente	GL	Valor p
Tratamientos	4	0,856
Bloques	2	0,974
Error	8	
Total	14	

Realizado por: Lara, A, 2024

En la tabla 4-30 el valor de probabilidad 0,856 es mayor nivel de significancia 0,05, lo que significa que no se rechaza hipótesis nula, es decir, que los plaguicidas utilizados no tienen efecto en la respiración de los suelos de la comunidad Utuñag.

En el estudio titulado “Efecto de los plaguicidas sobre la calidad química y biológica del suelo en sistemas de producción” realizado por (Pastor Mogollón, Vera y Martinez 2015) se observó los análisis estadísticos y se reportó que existen diferencias significativas entre los tratamientos evaluados a un nivel de significancia ( $p < 0,05$ ) esto indica que los suelos bajo producción agrícola presentan una disminución de la materia orgánica del suelo, en cuanto a los resultados obtenidos en la

presente investigación se puede observar que en análisis de varianza tanto de hongos como de bacterias se obtuvo un valor menor al nivel de significancia (0,005) lo cual indica que al menos uno de los plaguicidas utilizados tiene efecto en las UFC en la Microbiota y en la respiración de los suelos de Utuñag.

## 2.7. Respiración basal

La relación hongos: bacterias; de acuerdo con un estudio llevado a cabo por Malik (2016), el almacenamiento de carbono en el suelo, depende de la relación hongos: bacterias. Mientras el suelo sea dominado por hongos, el almacenamiento de carbono será mayor, probablemente debido a la alta capacidad de descomposición de materia orgánica que tienen los hongos. Por el contrario, cuando la relación h: b es baja, y el suelo empieza a ser dominado por bacterias, se empieza a perder carbono. Se puede asumir entonces, que una baja relación h: b indica degradación del suelo.

En un estudio realizado por (Ingham y Powers, 2018), existe una mayor abundancia de bacterias en las Solanáceas debido a que están presentes en suelos alcalinos con un pH mayor a 7 por la presencia de Nitrato y existe abundancia fúngica cuando existen suelos Ácidos con un pH por debajo de 7 con presencia de Amonio (Velázquez 2023).

Las prácticas para el control de malezas, tales como la labranza y aplicación de herbicidas químicos afectan el equilibrio de la biota del suelo, y al verse mermada la diversidad, se favorece el establecimiento de malezas, ocasionando así un círculo vicioso (Velázquez 2023).

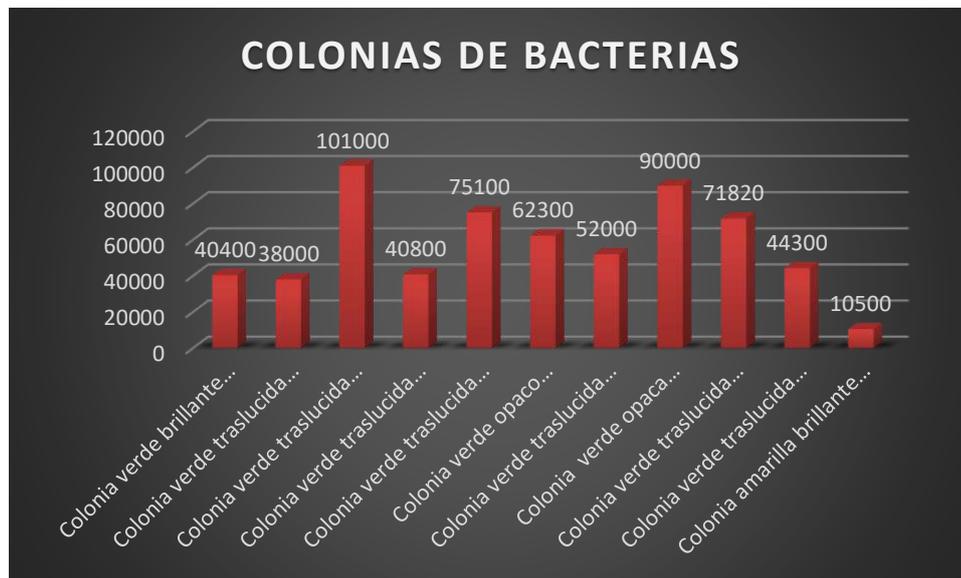
## 4.3. Discusión



**Ilustración 4-25:** Colonias de Hongos

Realizado por: Lara A, 2024

Según la ilustración 4-25, se identifica que el hongo *Beauveria bassiana* es el que más colonias formó durante los tratamientos con un aproximado >8 000; y el *Aspergillus niger* es el hongo que menos unidades de colonias formó con un estimado <3 000. Según Chiriboga, Gomez B. y Garces E. (2015, ppág. 13-14) mencionan que el hongo *Beauveria bassiana* es considerado uno de los agentes de control biológico con mejor eficiencia en el sector agrícola. Existen experiencias de todas partes del mundo en el control exitoso de varios tipos de plagas, que causan daño y grandes pérdidas en el sector (Yari Briones et al. 2021). Luna, Lozada y Trigos (2010, ppág. 63-64) dicen que el *Aspergillus niger* es un hongo patógeno que se presenta en forma de moho negro que produce ocratoxinas generalmente es común que contamine los granos de café, jugo de uva, cereales, cerveza y pan (Dumas 2023) El hongo *Aspergillus niger* es de rápido crecimiento, que en principio presenta un aspecto blanco grisáceo, pero con el paso del tiempo adquiere pigmentos amarillentos que se cubren con puntos oscuros conocidos como cabezas conidiales, conformadas por conidios, fiálides y métulas, que envuelven la vesícula presentando una forma radiada típica. La especie *Aspergillus niger* tiene importancia biotecnológica e industrial, dado que posee la capacidad de producir metabolitos, como el ácido glucónico, ácido gálico y ácido cítrico; también se puede obtener enzimas, como proteasas, pectinasas, glucosa oxidasas y celulosas.



**Ilustración 4-26:** Colonias de Bacterias

Realizado por: Lara A, 2024

En la ilustración 4-26 con mayor propagación es la bacteria que se encuentra en la colonia verde translúcida 101 000; con menor número de cepas es la colonia amarilla brillante.

La respiración basal mayor tuvo una varianza de acuerdo a cada diferente microorganismo teniendo una respiración mayor en la M2 con  $7,92 \text{ mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$  lo que significa mayor

presencia de productos orgánicos por ende mayor actividad microbiana, en otra investigación nos demuestra que debido a la variedad de microorganismos existentes en la zona y a su alta actividad microbiana hace que sus valores sean mayores alcanzando  $37,0 \pm 2,1 \text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ , comparado con  $31,8 \pm 2,4 \text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  (Pardo-Plaza, Paolini Gómez y Cantero-Guevara, 2019)

#### **4.4. Comprobación de la hipótesis**

Dentro de la investigación realizada se puede comprobar que la hipótesis alternativa cubre todas las especulaciones indicándonos que al menos uno de los plaguicidas que se utilizó si tiene efecto en la microbiota y respiración del suelo.

El valor p obtenido en la tabla 4-24 y 4-26, significa valor significativo, por tanto, la hipótesis alterna se acepta, lo que indica que los plaguicidas si tienen efecto significativo en las etapas fenológicas desde la siembra hasta la floración. En los hongos hay cambios significativos durante la aplicación de diluciones, mientras que en las bacterias no existen cambios significativos por diferentes mecanismos de reacción entre las diluciones y fungicidas.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES

- Se utilizó los fungicidas (Bienzab y Donner) con dosis de aplicación de 69 y 92 gramos, de esta manera se aplicó en el suelo para las tres unidades experimentales, lo cual tuvo efectos significativos tanto para hongos como para bacterias, evaluados en tiempos establecidos para conocer e identificar como influye los fungicidas en los microorganismos y en la respiración de suelo.
- Los microorganismos identificados fueron nueve en lo que se encontraron en mayor abundancia las especie de *Beauveria bassiana*, *Aspergillus flavus*, *Chaetomium sp*, *Thichoderma sp*, *Acremoniu spp*, *Fusarium sp*, *Clonostachys sp*, *Aspergillus niger*, *Mucor sp* y finalmente en menor abundancia la especie de *Penicillium spág*. Dando como resultado un total de 17990 hongos y 11180 bacterias en unidades formadoras de colonias.

## **RECOMENDACIONES**

- Se debe realizar la implementación de prácticas sostenibles como cultivos de cobertura, abonos orgánicos entre ellos incluye el compost, humus y biol, para incrementar la diversidad de microbiota y la respiración del suelo mejorando así, la calidad del recurso suelo, y reduciendo las prácticas inadecuadas como uso excesivo de agroquímicos, maquinaria agrícola, sobrepastoreo, entre otras.
- Se recomienda desarrollar investigaciones a futuro para ampliar el estudio a una mayor variedad de plaguicidas y en suelos de cultivos intensivos (hortalizas), para entender sus efectos específicos en la microbiota y respiración del suelo.
- Realizar estudios de largo plazo para observar los efectos acumulativos y crónicos de los plaguicidas en el microbiota del suelo y en la respiración del suelo, ya que los efectos pueden no ser inmediatos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. AGROTA, 2019. Sinoprid - Agrota. [en línea]. [consulta: 9 febrero 2024]. Disponible en: <https://www.agrota.com.ec/linea-plaguicidas/sinoprid/>.
2. ANTONIO, G., MEJÍA, G. y ZANABRIA, K., 2018. Determinación de microorganismos en el aire de los laboratorios de microbiología de la Universidad Continental-2018. [en línea], Disponible en: [https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/7198/3/IV\\_FCS\\_508\\_TI\\_Acosta\\_Mejia\\_Zanabria\\_2018.pdf](https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/7198/3/IV_FCS_508_TI_Acosta_Mejia_Zanabria_2018.pdf).
3. ARANA, I., ORRUÑO, M. y BARCINA, I., 2010. Enumeración De Microorganismos. *Como resolver aspectos practicos de Microbiologia* [en línea], vol. 1, Disponible en: [https://ocw.ehu.eus/file.php/48/Tema\\_2.\\_Metodos\\_basicos\\_de\\_enumeracion\\_de\\_microorganismos.pdf](https://ocw.ehu.eus/file.php/48/Tema_2._Metodos_basicos_de_enumeracion_de_microorganismos.pdf).
4. ARANDA, PIÑEIRO, FROLA, GUALFAND, CRUZ, ABRANTES y PÉREZ, 2022. Infección por *Chaetomium atrobrunneum* en Inmunocompetente con Hidatidosis Pulmonar . .
5. AVILA, J., 2020. Estudio del uso y manejo de los plaguicidas en cultivos de ciclo corto en Puerto La Boca, Jipijapa – Manabí. , vol. 0, no. 261,
6. ÁVILA, J. y QUITO, D., 2019. Identificación de la biodiversidad fúngica a través del análisis metagenómico del suelo en el área de la concesión minera Loma Larga Azuay - Ecuador. ,
7. BASTIDAS CEVALLOS, Y & VACA VIRACCUCHA, J., 2018. CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA PROVENIENTES DE SUELOS DE LOS CANTONES QUITO Y RUMIÑAHU. *Tesis* [en línea], vol. 1, Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>.
8. BERNUY PORTILLA, M., TABACO ESPINOZA, S. y VERA RODAS, Z., 2023. *Penicillium spp* . en muestras de tocosh de papa y maíz Microbiological study of the presence of. , vol. 12, no. 1,
9. BOU, G., FERNÁNDEZ-OLMOS, A., GARCÍA, C., SÁEZ-NIETO, J.A. y VALDEZATE,

- S., 2011. *Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología*. S.l.: s.n. vol. 29. ISBN 9788461479320.
10. CAMPOS, T. y ROSELIÓ, O., 2003. ESTUDIOS PRELIMINARES SOBRE EL USO DE HONGOS DEL GENERO *Chaetomium* COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO FRENTE A *Pyricularia* spág. EN EL CULTIVO DEL ARROZ. , no. 1,
  11. CAMPOS, T. y ROSELLÓ, J., 1998. Estudio preliminar de los aislamientos de los hongos *Chaetomium elatum* y *Chaetomium globosum* como antagonistas frente a *Rhizoctonia solani*. *Electronico* [en línea], Disponible en: <https://redivia.gva.es/handle/20.500.11939/7267>.
  12. CAPEAGRO, 2005. FITOCAPÁG. , vol. 50, no. 4,
  13. CASAFE, 2009. Mancozeb. , no. 987-21871- 0- X,
  14. CASTILLO, B., RUIZ, J., MANRIQUE, M. y POZO, C., 2020. Contaminación por plaguicidas agrícolas en los campos de cultivos en Cañete (Perú) Contamination by agricultural pesticides in crop fields in Cañete. *Revista ESPACIOS*, vol. 41, no. 10, ISSN 0798 1015.
  15. CASTRO, D., 2023. Impactos ambientales por agroquímicos en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) en Casanare en el periodo 2015-2021. , vol. 4, no. 1,
  16. CASTRO LÓPEZ, M. y MARTÍNEZ OSORIO, J., 2019. COMPATIBILIDAD DE *Beauveria bassiana* Y *Metarhizium anisopliae* CON *Chrysoperla externa* DEPREDADOR DE *Trialeurodes vaporariorum*. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia*, vol. 35, no. 1, ISSN 0719-3890.
  17. CHEMIE, 2019. Ficha técnica. ,
  18. CHIRIBOGA, H., GOMEZ B., G. y GARCES E., K., 2015. *Beauveria Bassiana*, hongo entomopatógeno para el control biológico de hormigas cortadoras. S.l.: s.n. ISBN 9789292485924.
  19. CHIRIBOGA, H., GÓMEZ, G. y GÁRCES, K., 2015. Protocolos para formulación y

- aplicación del bio-insumo: con la colaboración del *Trichoderma spp*. Para el control biológico de enfermedades Ing. *Biomass* [en línea], Disponible en: <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2647/BVE17038725e.pdf?sequence=1>.
20. CHONILLO, PÁG., 2021. Efecto de cuatro bioestimulantes en la resistencia sistémica inducida del cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) bajo invernadero. ,
  21. CIENCIAS DE LA SALUD, 2023. *Características morfológicas de los microorganismos*. 2023. S.l.: s.n.
  22. CONDORI, X., 2021. Identificación y clasificación de microorganismos eficientes del suelo, en la estación experimental Patacamaya. *Universidad Mayor de San Andrés*,
  23. CONSTANTE, C., 2023. “ESTUDIO DE TRES TIPOS DE TRAMPAS CON EL USO DE DOS INSECTICIDAS PARA EL MONITOREO DEL GUSANO BLANCO (*Premnotrypes vorax*) EN LA LOCALIDAD DE CUTURIVI CHICO - COTOPAXI – PUJILÍ, 2022 – 2023”. ,
  24. COTERVA, L., 2018. Uso de agroquímicos en el cultivo de papa en Ecuador. *Agronomía Mesoamericana*, vol. 25, no. 2, DOI 10.15517/am.v25i2.15441.
  25. CRUZ-LACHICA, I., MÁRQUEZ-ZEQUERA, I., GARCÍA-ESTRADA, R.S., CARRILLO-FASIO, J.A., LEÓN-FÉLIX, J. y ALLENDE-MOLAR, R., 2017. Identificación de hongos mucorales causantes de la pudrición blanda en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) en México. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, vol. 35, no. 3, DOI 10.18781/r.mex.fit.1611-3.
  26. CUESTA, J., 2023. Problemas del suelo por el uso excesivo de productos químicos en la agricultura del Ecuador. , ISSN 0738-0577.
  27. DÁVALOS, J., 2021. Evaluación del uso de hongos entomopatógenos con propiedades insecticidas para el control del minador (*Liriomyza huidobrensis*). *Universidad San Francisco de Quito*,
  28. DÍAZ, J., BARRAZA, A., YÁÑEZ, L. y HERNÁNDEZ, L., 2021. Plaguicidas en alimentos: Riesgo a la salud y marco regulatorio en Veracruz, México. *Salud Publica de Mexico*, vol.

63, no. 4, ISSN 16067916. DOI 10.21149/12297.

29. DUEÑAS, E., 2022. “EVALUACIÓN DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS EN LA DINÁMICA POBLACIONAL DE *Liriomyza huidobrensis* B. Y *Coenosia attenuata* Stein EN LISIANTHUS (*Eustoma grandiflorum* [RAF.] SHINN), URCUQUÍ.” ,
30. DUMAS, L., 2023. *Evaluación del contenido proteico del raquis de la palma africana (Elaeis guineensis) utilizando Aspergillus niger*. S.l.: s.n. vol. 4. ISBN 1802561595.
31. ESPOCH, 2023. ubicación esepoch - Buscar con Google. .
32. FAO, 2020. Mejora en la producción y registro de una cepa del agente de control biológico *Clonostachys rosea* para el control del moho gris. [en línea], Disponible en: [https://www.gub.uy/ministerioambiente/sites/ministerioambiente/files/documentos/publicaciones/Informe Final - Carta de Acuerdo sobre \*Clonostachys rosea\* - Feb2021.pdf](https://www.gub.uy/ministerioambiente/sites/ministerioambiente/files/documentos/publicaciones/Informe%20Final%20-%20Carta%20de%20Acuerdo%20sobre%20Clonostachys%20rosea%20-%20Feb2021.pdf).
33. FERTILAB, 2016. La Respiración como Indicador de la Salud del Suelo. [en línea], Disponible en: <https://www.fertilab.com.mx/Sitio/notas/La-Respiracion-como-Indicador.pdf>.
34. FREIRE, D., 2022. Estudio de la diversidad fúngica asociada a suelos agrícolas en cinco localidades de Santa Cruz-Provincia de Galápagos. ,
35. GAD MUNICIPAL DEL CANTÓN PENIPE, 2022. ComponenteBiofísico\_PENIPE. ,
36. GADPENIPE, 2020. *Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón Penipe*. 2020. S.l.: s.n.
37. GÁLVEZ FEJOO, A.S., 2021. «Importancia De La Agricultura Para El Desarrollo De Las Comunidades Rurales De La Parroquia Malvas Del Cantón Zaruma». ,
38. GÁRCES, A Y SARAVIA, K., 2011. MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DE LOS MICROORGANISMOS MORFOLOGÍA. *Encyclopedia of Astrobiology*, DOI 10.1007/978-3-642-11274-4\_1302.
39. GARCÍA ÁVILA, C.D.J., VALENZUELA TIRADO, G.A., FLORENCIO ANASTASIO, J.G.G., RUIZ GALVÁN, I., MORENO-VELÁZQUEZ, M., HERNÁNDEZ MACÍAS, B.,

- LÓPEZ BUENFIL, J.A., BRAVO PÉREZ, D., PINEDA RÍOS, J.M., QUEZADA SALINAS, A. y ÁVILA QUEZADA, G., 2018. Organismos asociados a daños en tubérculos de papa en postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, vol. 36, no. 2, DOI 10.18781/r.mex.fit.1801-1.
40. GARZÓN, K., MARTÍNEZ, Y. y ROMERO, V., 2022. Análisis de la presencia de microorganismos en el suelo de huertas urbanas en la localidad de Kennedy. ,
41. GÓMEZ, R.M.PÁG., ARBOLEDA, V.J.W. y MOSQUERA, M.O.M., 2021. Género *Aspergillus* : fuente potencial de péptidos bioactivos \* *Aspergillus* Genus : Potential Source of Bioactive Peptides. , vol. 17, no. 1,
42. GONZÁLEZ, E. y FUENTES, M.H., 2022. Dynamics of glyphosate in soil and its effects on microbiota. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, vol. 38, ISSN 01884999. DOI 10.20937/RICA.54197.
43. GONZALEZ, N., 2023. DIMIPRID 35 SC (Imidacloprid 35) | Insecticida | DVA Panama. [en línea]. [consulta: 9 febrero 2024]. Disponible en: <https://dva.com/pan/productos/insecticidas/dimiprid-35-sc/>.
44. GUANGA, D., 2022. Diseño de una planta de tratamiento residual en la comunidad Utuña perteneciente al Cantón Penipe Provincia de Chimborazo. ,
45. GUILLEN NEPITA, A., 2020. Morfología microscópica – ding! Microbiología. [en línea]. [consulta: 3 febrero 2024]. Disponible en: <https://dingmicrolab.wordpress.com/2020/10/06/morfologia-microscopica/>.
46. HERNÁNDEZ MELCHOR, D.J., FERRERA CERRATO, R. y ALARCÓN, A., 2019. *Trichoderma*: Agricultural and biotechnological importance, and fermentation systems for producing biomass and enzymes of industrial interest. *Chilean Journal of Agricultural and Animal Sciences*, vol. 35, no. 1, ISSN 07193890.
47. HUARCA, H., 2012. *Alternativas De Manejo Del Gusano Blanco*. 2012. S.l.: s.n.
48. IGLESIAS OSORES, S., 2020. Características Microbiológicas de *Mucor* spág. , vol. 6, no. 1,

49. INSST, 2021. *Aspergillus spp*. - Agentes Biológicos - Hongo. [en línea]. [consulta: 29 febrero 2024]. Disponible en: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/aspergillus-spp>.
50. INTAGRI, 2016. *Beauveria bassiana* en el Control Biológico de Patógenos | Intagri S.C. [en línea]. [consulta: 29 febrero 2024]. Disponible en: <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/beauveria-bassiana-en-el-control-biologico-de-patogenos>.
51. IZQUIERDO, J., 2017. Contaminación De Los Suelos Agrícolas Provocados Por El Uso De Los Agroquímicos En La Parroquia San Joaquín. *Universidad Politecnica Salesiana*,
52. JIMÉNEZ-CAMARGO, A., VALADEZ-MOCTEZUMA, E. y LOZOYA-SALDAÑA, H., 2018. Antagonism by *Penicillium sp*. Against *Phytophthora capsici* (Leonian). *Revista Fitotecnica Mexicana*, vol. 41, no. 2, ISSN 01877380. DOI 10.35196/rfm.2018.2.137-148.
53. LABSTER, 2023. Reactivos utilizados en la tinción de Gram - Labster. [en línea]. [consulta: 3 febrero 2024]. Disponible en: <https://theory.labster.com/es/reagents/>.
54. LÓPEZ DÍAZ, Z., 2013. TEMA 3. Micología. | UVS Fajardo. [en línea]. [consulta: 3 febrero 2024]. Disponible en: <http://uvsfajardo.sld.cu/tema-3-micologia>.
55. LÓPEZ, I., RIVERA, V., YÁNEZ, Á., ARTIEDA, J. y VILLACRES, G., 2017. Evaluación de la actividad insecticida de *Schinus molle* sobre *Premnotrypes vorax* en papa. *Agronomía Costarricense*, vol. 41, no. 2, ISSN 0377-9424. DOI 10.15517/rac.v41i2.31302.
56. LÓPEZ, L. y MONTERROSO, A., 2020. CO<sub>2</sub> mitigation strategies based on soil respiration. *Granja*, vol. 32, ISSN 13908596. DOI 10.17163/lgr.n32.2020.03.
57. LUCERO, H., 2018. Manual del cultivo de la papa para la Sierra Sur. ,
58. LUNA, M., LOZADA, Y. y TRIGOS, Á., 2010. Aislamiento de cepas de *Aspergillus niger*, productoras de ocratoxina A, en café verde (*Coffea arabica*) almacenado. *Revista Mexicana de Micología*, vol. 32, ISSN 0187-3180.
59. MARTÍNEZ ALBA, A.S., ARRIOLA MOSQUEDA, L.A. y SAHAGÚN, 2015. Inhibición

de la formación de pupas de *Musca domestica* L. por *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin nativa del estado de Guanajuato. *Revista de Divulgación Científica*, no. 1,

60. MELIZA, L., CASTILLA, M., MARILYN, L. y PECEROS, Y., 2023. DETERMINACIÓN DEL GRADO DE CONTAMINACIÓN POR PRESENCIA DE PLAGUICIDAS EN SUELOS DE CULTIVO DE PAPA EN LA LOCALIDAD DE SUCARAYLLA, ANDAHUAYLAS. ,
61. MENDOZA, R.B. y ESPINOZA, A., 2017. Guía Técnica para Muestreo de Suelos. ,
62. MORANTE, E., 2022. Uso de plaguicidas químicos en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) y su influencia con el medio ambiente en el Ecuador. ,
63. MUJICA, D., ALVITES, PÁG., CARHUAPOMA, L. y KROSCHE, J., 2016. Pest Distribution and Risk Atlas for Africa. Potential global and regional distribution and abundance of agricultural and horticultural pests and associated biocontrol agents under current and future climates. , no. Blanchard 1938, DOI 10.4160/9789290604761.
64. MUÑOZ DÍAZ, G. y VEGA DÍAZ, N., 2016. Acción Biológica de *Clonostachys* sp Sobre *Meloidogyne incognita* EN *Plukenetia volubilis*, bajo condiciones controladas. ,
65. ORDUZ TOVAR, S.A., MACHADO CUÉLLAR, L. y RODRÍGUEZ SUÁREZ, L., 2021. Importancia De La Biota Edáfica Para La Productividad En Agroecosistemas. *Revista Nova*, vol. 6, ISSN 2500-4476. DOI 10.23850/25004476.3681.
66. PADILLA, M.PÁG., 2012. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DETECTADOS POR FERMENTACIÓN EN MEDIO LÍQUIDO DE *Acremonium* spág. NATIVO DEL PÁRAMO DE CRUZ VERDE. , vol. 66, no. 3,
67. PARDO-PLAZA, Y.J., PAOLINI GÓMEZ, J.E. y CANTERO-GUEVARA, M.E., 2019. Biomasa microbiana y respiración basal del suelo bajo sistemas agroforestales con cultivos de café. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, vol. 22, no. 1, ISSN 01234226. DOI 10.31910/rudca.v22.n1.2019.1144.
68. PASTOR MOGOLLÓN, J., VERA, M.C. y MARTINEZ, A., 2015. Efecto de los plaguicidas sobre la calidad química y biológica del suelo. *Química Viva*, vol. 14, no. 1,

69. PAZMIÑO LIZBETH, 2022. Cuantificación De La Respiración Edáfica Como Medida Para La Actividad Microbiana En La Zona De Panzarrumi Del Parque Nacional De Llanganates. ,
70. PDOT DEL CANTÓN PENIPE, 2012. Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Penipe PLAN DE DESARROLLO Y ORDENAMIENTO TERRITORIAL DEL CANTÓN Penipe, PDYOT. , no. 2012,
71. PEÑA, J., 2018. *Evaluación del efecto antialimentario y actividad insecticida del aceite esencial de molle (Schinus molle L.) frente al gusano blanco de la papa (Premnotrypes vorax Hustache)*. S.l.: s.n. ISBN 1600862195.
72. PILDAIN, CABRAL, M.B., VAAMONDE, D.; y RIA, G., 2005. Poblaciones de *Aspergillus flavus* en maní cultivado en diferentes zonas agroecológicas de la Argentina, caracterización morfológica y toxigénica. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, vol. 34, no. 3,
73. PLAN DE DESARROLLO DE ORDENAMIENTO TERRITORIAL DEL CANTÓN PENIPE, 2014. 3. análisis estratégico territorial. , no. Gráfico 74,
74. PUERTO, A., SUÁREZ, S. y PALACIO, D., 2014. Efecto de los plaguicidas sobre el ambiente y salud. , ISSN 0253-1751.
75. RAINBOW AGRO LATAM, 2023. Rainbow Ecuador. [en línea]. [consulta: 9 febrero 2024]. Disponible en: <https://www.rainbowagrolatam.com/ec/informacion-de-bienzeb-667>.
76. RAMÍREZ, A., 2022. ÁREA FOLIAR Y RENDIMIENTO DE DOS CULTIVARES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) BAJO CULTIVO EN INVERNADERO. ,
77. RANGEL MUÑOZ, E.J., MORENO RICOB, O., HERNÁNDEZ DELGADOC, S., CRUZ VÁZQUEZD, C., LUNA-LÓPEZA, M.C. de, QUEZADA TRISTÁNA, T., ORTIZ MARTÍNEZA, R. y MÁYEK PÉREZE, N., 2020. Caracterización de *Aspergillus flavus* y cuantificación de aflatoxinas en pienso y leche cruda de vacas en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, vol. 11, no. 2,
78. REYES OCAMPO, I., GONZÁLEZ BRAMBILA, M. y LÓPEZ ISUNZA, F., 2013. An

analysis of the metabolism of *Aspergillus niger* growing over a solid substrate. *Revista Mexicana de Ingeniera Quimica*, vol. 12, no. 1, ISSN 16652738.

79. ROBLEDO, A., 2019. Control de pulgón en pimiento ecológico bajo invernadero en el sudeste peninsular. *Phytoma*, vol. 306,
80. RODRÍGUEZ, E., 2016. Caracterización morfo-cultural e identificación molecular de comunidades bacterianas de la cuenca hidrográfica “El Carmen”-Loja. ,
81. SÁNCHEZ F, E.PÁG., NÚÑEZ R, D., CRUZ L, R.O., TORRES H, M.A. y HERRERA M., E. V, 2017. Simulación y Conteo de Unidades Formadoras de Colonias. *ReCIBE*, vol. 6, no. 1,
82. SINCHIRE, R., CAYAMBE, J. y HEREDIA, M., 2023. Conocimiento, percepción y prácticas de los agricultores sobre la aplicación de plaguicidas: un estudio de caso de productores de arroz en Ecuador. *Revista Tecnológica - ESPOL*, vol. 35, no. 1, ISSN 0257-1749. DOI 10.37815/rte.v35n1.1013.
83. SORIA, M.A., 2016. ¿Por qué son importantes los microorganismos del suelo para la agricultura? *Química Viva*, vol. 15, no. 2, ISSN 1666-7948.
84. TACALITI, M., TOCHO, E., GONZALES, M., CIRIACO, C., COSENTINO, M., PALOMINO, L., RICCI, M. y ROMANELLI, G., 2020. SINTESIS DE FLAVONA AMIGABLE CON EL MEDIO AMBIENTE Y SU EFECTO SOBRE LA INTERACCIÓN LECHUGA - ÁFIDOS. , vol. 7, no. 1,
85. TORRI, S., 2015. Dinámica de los plaguicidas en los agroecosistemas. , no. August,
86. TRIDENTE, 2019. Tridente. [en línea]. [consulta: 9 febrero 2024]. Disponible en: [https://www.tridente.com.mx/agr\\_producto/dimetri-400/](https://www.tridente.com.mx/agr_producto/dimetri-400/).
87. VARGAS GUTIERREZ, M., 2018. CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA CULTIVABLE, ASOCIADA AL RESIDUO LIGNOCELULOSICO DEL PROCESO DE BENEFICIO DE LA HOJA FIQUE (*Furcraea andina*) EN MOGOTES, SANTANDER. ,

88. VELÁZQUEZ, A., 2023. (25) ¿Inocular hongos o bacterias? Enfoque en la relación h:b | LinkedIn. .
89. VILLACRÉS, N., 2022. Uso de Plaguicidas Químicos en el cultivo de Papa (*Solanum tuberosum* L), su relación con Medio Ambiente y la Salud. *CPAH Scientific Journal of Health*, vol. 5, no. 1, DOI 10.56238/cpahjournalv5n1-004.
90. VILLALBA-VILLALBA, A.G., CRUZ-CAMPAS, M.E. y AZUARA-GÓMEZ, G. V., 2018. *Aspergillus Niger* Tiegh., aislado en Sonora, México: Evaluación de tolerancia a metales. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, vol. 24, no. 2, ISSN 20074018. DOI 10.5154/r.rchscfa.2017.03.023.
91. VILLASAGUA, R., 2023. “Manejo de la mosca minadora (*Liriomyza* spp) en el cultivo de Papa (*Solanum tuberosum*), en Ecuador”. ,
92. YANGGEN, D., CRISSMAN, C. y ESPINOSA, PÁG., 2022. INIAP -Estación Experimental Santa Catalina. ,
93. YARI BRIONES, D.I., PAREDES VALDERRAMA, J.R., MILLA PINO, M.E. y MURGA VALDERRAMA, N.L., 2021. Effect of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the control of ticks in cattle. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, vol. 32, no. 5, ISSN 16099117. DOI 10.15381/rivepág.v32i5.19586.



## ANEXOS

### ANEXO A: RECONOCIMIENTO Y MEDICIÓN DE CUADRANTES



Medición de  $6 \times 5 \text{ m}^2$  en tres cuadrantes con un área total de  $90 \text{ m}^2$



Colocación de estacas en los cuadrantes



3 cuadrantes listos



Colocación de la piola en los cuadrantes

## ANEXO B: RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DEL SUELO NO INTERVENIDO



Materiales



Toma de muestras a 20 cm



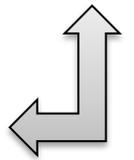
Recolección de submuestras en un solo contenedor



Muestras listas para el traslado al laboratorio



Etiquetado en muestras



ANEXO C: LIMPIEZA Y PREPARACIÓN DEL TERRENO PARA EL CULTIVO



Limpieza y desmonte de *Pennisetum clandestinum*



Realización de surcos para la siembra de papa

## ANEXO D: SIEMBRA DEL CULTIVO DE PAPA



Selección de semillas



Colocación de 2 semillas cada 40 cm en los huachos en los 3 cuadrantes



Colocación de un porcentaje mínimo de fertilizante para el crecimiento



Cubierta de la siembra de papa

**ANEXO E: SIEMBRA DE CULTIVOS EN MEDIO-PDA, AN**



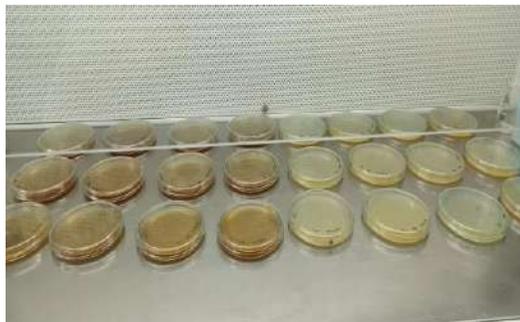
PDA- AN- Soluciones salinas



Soluciones salinas + Suelo (Solución madre)



Agitación por 24 h



Medios de cultivos de PDA-AN



Siembra de solución madre y diluciones

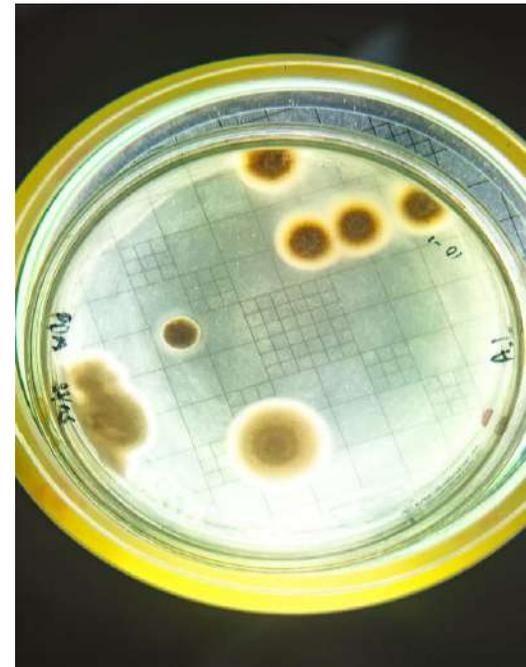


Incubadora a 28 °C

## ANEXO F: IDENTIFICACIÓN Y CONTEO DE COLONIAS DE BACTERIAS Y HONGOS



Contador de Colonias



Cultivo de PDA

Realizado por: Lara A, 2024.

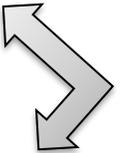
## ANEXO G: FASE DE LABORATORIO MÉTODO BASAL



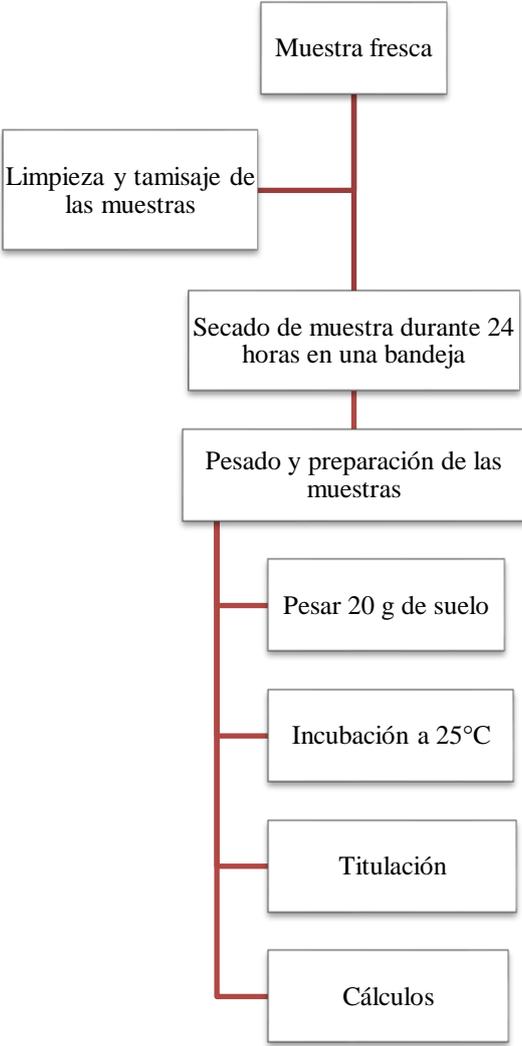
Limpieza y tamizaje



Se coloca 20 ml de NaOH en un frasco de vidrio con boca ancha y se introduce dentro un frasco pequeño de plástico con pequeños orificios 20 gramos de suelo y se lo sella con Parafilm y se lo deja durante 7 en la incubadora a una temperatura de en la incubadora a 25°C



**ANEXO H: PROCESO DE FLUJO PARA EL MÉTOFO BASAL EN EL LABORATORIO**



## ANEXO I: PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS PARA EL MÉTODO BASAL

- a) **Hidróxido de sodio 0,05M (NaOH).**- Se pesó 2g de hidróxido de sodio, se los disolvió en agua destilada y se aforó 1000 ml.
- b) **Ácido clorhídrico 0,1 M (HCL).**- Se tomó 4,5 ml de ácido clorhídrico (se usó las cámaras de extracción y equipo de protección ya que se desprende olores fuertes y tóxicos), se disolvió en agua destilada y se aforó a 500 ml.
- c) **Clorhidrato de Bario 0,5M (BaCl<sub>2</sub>).**- Se pesó 10 g de clorhidrato de bario y se aforó a 100 ml con agua destilada.
- d) **Fenolftaleína (C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>)** .- Se pesó 0,1 g de fenolftaleína y se diluyó en 60 ml de alcohol y se aforo a 100 ml con agua destilada.

Reactivo	Fórmula
Hidróxido de sodio	<i>NaOH</i>
Ácido clorhídrico	<i>HCl</i>
Clorhidrato de Bario	<i>BaCl<sub>2</sub></i>
Fenolftaleína	<i>C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub></i>

## ANEXO J: DISEÑOS EXPERIMENTALES DE LA MICROBIOTA Y RESPIRACIÓN DEL SUELO

El diseño experimental consta de 5 Tratamientos y se realizó tres repeticiones por cada muestra y se tomaron los datos conforme se iban encubando y reproduciendo los microorganismos.

Hongos	Bacterias	Tratamientos	Bloques
180	1430	M1	1
120	260	M2	1
90	130	M3	1
10	65	M4	1
0	325	M5	1
1625	845	M1	2
90	65	M2	2
10	130	M3	2
140	260	M4	2
230	1430	M5	2
1105	650	M1	3
30	325	M2	3
80	195	M3	3
0	195	M4	3
40	845	M5	3

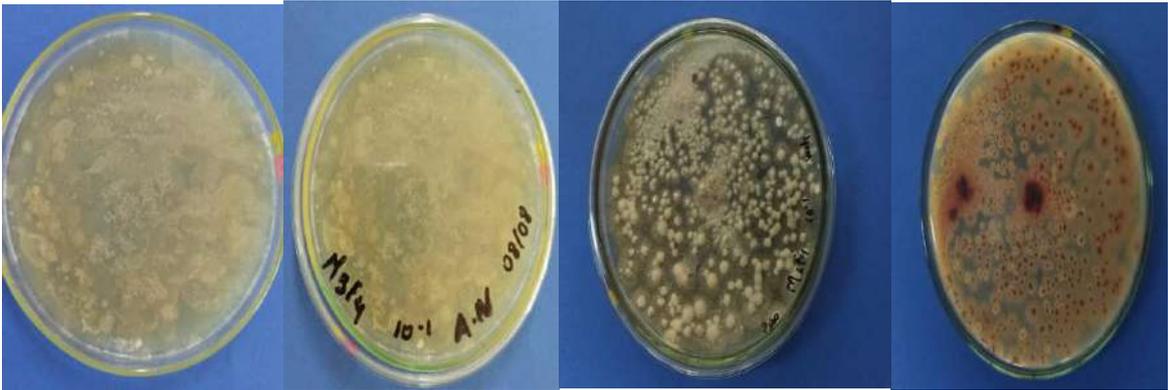
El diseño experimental de la respiración basal consta de 5 Tratamientos y se realizó tres repeticiones por cada muestra y se tomaron los datos conforme se iban encubando a los 7 días.

Respiración del Suelo	Tratamientos	Bloques
6,29	M1	1
5,59	M2	2
6,53	M3	3
3,03	M4	1
3,50	M5	2
1,40	M1	3
5,24	M2	1
5,71	M3	2
4,78	M4	3
7,69	M5	1
6,99	M1	2
7,92	M2	3
3,96	M3	1
5,83	M4	2
6,99	M5	3

**ANEXO K: CICLO FENOLÓGICO DEL CULTIVO DE PAPA HASTA LA ETAPA DE FLORACIÓN**



ANEXO L: DILUCIONES DE BACTERIAS Y HONGOS EN MEDIO AN, PDA





**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA**  
**NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO**

**Fecha de entrega:** 08/03/2024

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Angela Mishell Lara Coronel
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Recursos Naturales
<b>Carrera:</b> Recursos Naturales Renovables
<b>Título a optar:</b> Ingeniera en Recursos Naturales Renovables
<p style="text-align: center;"> Ing. Andrea Patricia Guapi Auquilla, Mgs. <b>Directora del Trabajo de Integración Curricular</b></p> <p style="text-align: center;"> Ing. Alex Vinicio Gavilanes Montoya, PhD. <b>Asesor del Trabajo de Integración Curricular</b></p>